

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

**Interakce antiretrovirotik s lékovými transportéry; vliv na
farmakokinetiku**

**Interactions of antiretrovirals with drug transporters; role in
pharmacokinetics**

Dizertační práce

Mgr. Josef Řezníček

Školitel: prof. PharmDr. František Štaud, Ph.D.

Konzultant: doc. PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.

Hradec Králové 2018

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracoval samostatně pod vedením svého školitele prof. PharmDr. Františka Štauda, Ph.D. a konzultantky doc. PharmDr. Martiny Čečkové, Ph.D. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Mgr. Josef Řezníček

.....

Poděkování

Rád bych poděkoval svému školiteli prof. PharmDr. Františku Štaudovi, Ph.D. za umožnění mého postgraduálního studia a též za jeho cenné rady a připomínky. Velký dík patří mé konzultantce doc. PharmDr. Martině Čečkové, Ph.D. za vedení mého studia, za její trpělivost, vstřícnost, pomoc a rady při plánování experimentů, vyhodnocování výsledků a sepisování manuskriptů. Děkuji také laborantkám Daně Součkové a Renatě Exnarové za pomoc při provádění experimentů na zvířatech. Dále bych chtěl poděkovat členům skupiny experimentální farmakologie a lékových interakcí za vytvoření příjemného a přátelského pracovního prostředí, především pak starším zkušenějším kolegům, kteří mě naučili praktickým laboratorním dovednostem.

Za finanční podporu při realizaci mé dizertační práce děkuji Grantové agentuře Univerzity Karlovy (SVV/2018/260 414, GAUK 1148213/C/2013) a Grantové agentuře České republiky (GAČR 303/13-31118P).

V neposlední řadě bych rád poděkoval svým rodičům za finanční podporu, bez které by bylo absolvování postgraduálního studia v prezenční formě mnohem obtížnější. Mé manželce děkuji za její trpělivost, podporu a porozumění během celého studia a dceři děkuji za radost, kterou mě naplňuje v těžkých chvílích.

Tuto práci věnuji své matce, která pro mě byla vzorem v touze po poznávání nových věcí, celý život mě ve studiu podporovala a pro niž představovalo dosažení mého doktorského vzdělání jeden z životních cílů, kterého se ale bohužel už nedožila.

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Kandidát: Mgr. Josef Řezníček

Školitel: prof. PharmDr. František Štaud, Ph.D.

Konzultant: doc. PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.

Název dizertační práce: Interakce antiretrovirotik s lékovými transportéry; vliv na farmakokinetiku

Nynější farmakoterapie HIV pozitivních pacientů v západním světě spočívá převážně v současném podávání tří nebo více antiretrovirotik z různých farmakoterapeutických skupin, tzv. kombinovaná antiretrovirální terapie (cART). Pomocí tohoto přístupu je dosaženo výrazného snížení virové zátěže, oddálení propuknutí virové rezistence a prodloužení účinnosti terapie. Použití cART však často vede ke vzniku lékových interakcí, které mohou mít za následek sub- nebo supraterapeutické koncentrace léčiv v organismu s následným selháním léčby, případně projevy toxicity. Velký vliv na vznik lékových interakcí mají lékové transportéry, které jsou exprimovány v řadě tkání lidského organismu. Znalost interakcí jednotlivých antiretrovirálních látek s lékovými transportéry je tedy důležitá k zajištění bezpečné a účinné terapie HIV infekce.

Náplní předkládané dizertační práce bylo studium interakcí léčiv používaných v kombinované antiretrovirální terapii s vybranými ABC a SLC lékovými transportéry. Při studiu jsme se dále zaměřili na roli studovaných transportérů v ovlivnění farmakokinetiky vybraných antiretrovirotik a na riziko vzájemného ovlivnění léčiv. Pro řešení projektu jsme použili řadu zavedených experimentálních metodik jako *in vitro* akumulární a transportní experimenty na buněčných liniích exprimujících ABC nebo SLC transportéry, *in situ* metodu duálně perfundované potkaní placenty a *in vivo* farmakokinetické experimenty na samcích potkanů kmene Wistar.

Pomocí *in vitro* studií jsme popsali, že emtricitabin, nukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy (NRTI), je substrátem MATE1, nicméně bez afinity k OCT1, OCT2, P-gp, BCRP

nebo MRP2 transportním proteinům. Oproti tomu transport NRTI lamivudinu je zajišťován jak OCT tak MATE1 transportéry. Tato interakce pravděpodobně neovlivňuje významně transport lamivudinu přes placentu, nicméně je zodpovědná za aktivní tubulární exkreci lamivudinu do moči. Nenukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy (NNRTI) efavirenz byl v další části naší studie popsán jako silný inhibitor OCT1, OCT2, MATE1 a MRP2 schopný významně snížit renální clearance lamivudinu *in vivo* u potkanů a zvýšit akumulaci tohoto antiretrovirotika v ledvinné tkáni.

Dále jsme prokázali, že NNRTI nové generace, etravirin, je schopný inhibicí placentárního BCRP zvyšovat přestup tenofovir disoproxil fumarátu (TDF) přes placentu z matky do plodu. Odhalili jsme také, že další látka z této skupiny, rilpivirin, je silným inhibitorem P-gp a BCRP transportérů, avšak neovlivňuje transportní funkci MRP2, OCT1, OCT2 ani MATE1. Inhibicí střevních P-gp a BCRP zvyšuje rilpivirin biologickou dostupnost současně podaného NRTI abakaviru.

Publikované výsledky významně rozšiřují současné znalosti ohledně interakcí antiretrovirotik s lékovými transportéry a objasňují mechanismy ovlivnění absorpce, eliminace i distribuce současně podaných léčiv v rámci cART. Tyto poznatky mohou přispět k efektivnější a bezpečnější terapii HIV pozitivních pacientů.

Abstract

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Pharmacology and Toxicology

Candidate: Mgr. Josef Řezníček

Supervisor: prof. PharmDr. František Štaud, Ph.D.

Consultant: doc. PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.

Title of doctoral thesis: Interactions of antiretrovirals with drug transporters; role in pharmacokinetics

Current pharmacotherapy of HIV positive patients consists of co-administration of three or more antiretrovirals from different pharmacotherapeutic groups, so called combination antiretroviral therapy (cART). Using this approach, a significant reduction in viral load, delayed viral resistance progression and prolonged efficacy of therapy is achieved. However, the use of cART often bears the risk of drug-drug interactions, which may result in subtherapeutic or supratherapeutic concentrations of drugs in organism with subsequent failure of therapy, or manifestation of toxic effects. Drug transporters expressed in many tissues of human body are widely responsible for occurrence of drug-drug interactions. Therefore, detailed knowledge on antiretrovirals pharmacokinetics and their interactions with drug transporters is important to ensure safe and effective therapy of HIV infection.

The aim of this thesis was to study interactions of drugs used in combination antiretroviral therapy with selected ABC and SLC drug transporters. We further focused on the role of several drug transporters in pharmacokinetics of various antiretroviral drugs and on potential risk to develop drug-drug interactions. Several established experimental models such as *in vitro* accumulation and transport assays on cell lines expressing ABC or SLC transporters, *in situ* method of dually perfused rat placenta and *in vivo* pharmacokinetic experiments on Wistar male rats were used in this project.

Using *in vitro* assays, we revealed emtricitabine, a nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI), as a substrate of MATE1, but with no affinity to OCT1, OCT2, P-gp, BCRP or MRP2 transport proteins. In contrast, transport of NRTI lamivudine is ensured by both OCT

and MATE1 transporters. This interaction probably does not influence transplacental passage of lamivudine, however, it is responsible for active tubular excretion of this compound into urine. In another part of our study, a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI), efavirenz, was described as a strong inhibitor of OCT1, OCT2, MATE1 and MRP2; correspondingly, the drug was able to significantly decrease renal clearance of lamivudine *in vivo* in rats and increase accumulation of this antiretroviral in renal tissue.

In addition, we proved that a novel NNRTI, etravirine, is able to increase transport of tenofovir disoproxil fumarate (TDF) across the rat placenta from mother to foetus by inhibition of placental BCRP. We also found, that another drug from this group, rilpivirine, is a strong inhibitor of P-gp and BCRP but not MRP2, OCT1, OCT2 or MATE1. Subsequently, rilpivirine was able to increase the bioavailability of co-administered abacavir by inhibition of intestinal P-gp and BCRP.

Our results significantly enlarge the current knowledge on interactions of antiretrovirals with drug transporters and clarify the mechanisms that influence absorption, elimination and distribution of co-administered drugs within cART. These results may contribute to composing more efficient and safer therapy of HIV positive patients.

Obsah

1	SEZNAM ZKRATEK	1
2	ÚVOD	3
3	TEORETICKÁ ČÁST	4
3.1	Lékové transportéry.....	4
3.1.1	ABC transportéry	4
3.1.1.1	P-glykoprotein (ABCB1, MDR1, P-gp)	5
3.1.1.2	Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2, BCRP)	5
3.1.1.3	Multidrug Resistance-Associated Proteins (ABCCs, MRPs).....	6
3.1.2	SLC transportéry	7
3.1.2.1	Transportéry organických kationtů (SLC22As, OCTs).....	7
3.1.2.2	Multidrug and toxin extrusion proteins (SLC47As, MATEs)	8
3.2	Role lékových transportérů ve farmakokinetice.....	10
3.2.1	Absorpce.....	10
3.2.2	Distribuce	11
3.2.3	Exkrece.....	13
3.3	Role lékových transportérů ve vzniku lékových interakcí	16
3.4	Kombinovaná antiretrovirální terapie (cART).....	20
3.4.1	Přehled antiretrovirotik studovaných v rámci této práce.....	22
3.4.1.1	Emtricitabin.....	22
3.4.1.2	Lamivudin	23
3.4.1.3	Efavirenz	24
3.4.1.4	Etravirin	26
3.4.1.5	Rilpivirin	27
3.4.1.6	Abakavir.....	29
3.4.1.7	Tenofovir disoproxil fumarát (TDF).....	30
4	CÍLE PRÁCE.....	33
5	SEZNAM PRACÍ A PODÍL KANDIDÁTA NA JEDNOTLIVÝCH PUBLIKACÍCH	34
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	36
7	JEDNOTLIVÉ PRÁCE A JEJICH KOMENTÁŘE	45
7.1	Emtricitabine is a substrate of MATE1 but not of OCT1, OCT2, P-gp, BCRP or MRP2 transporters.....	46
7.2	Etravirine inhibits ABCG2 drug transporter and affects transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate	47

7.3	MDR1 and BCRP transporter-mediated drug-drug interaction between rilpivirine and abacavir; effect on intestinal absorption	48
7.4	Efavirenz reduces renal excretion of lamivudine by inhibiting organic cation transporters (OCT, Oct) and multidrug and toxin extrusion proteins (MATE, Mate).	49
7.5	Role of ABC and solute carrier transporters in the placental transport of lamivudine	50
7.6	Universal efavirenz determination in transport study, rat placenta perfusion and placenta lysate by HPLC-UV	51
8	ZÁVĚR	52
9	SEZNAM DOPOSUD PUBLIKOVANÝCH PRACÍ KANDIDÁTA	56
9.1	Recenzované publikace v odborných časopisech s IF týkající se tématu práce.....	56
9.2	Přednášky na konferencích.....	57
9.3	Postery prezentované na konferencích	58
10	OCENĚNÍ	60

1 Seznam zkratk

ABC	„ATP-binding cassette“, rodina ATP-dependentních transportérů
ATP	Adenosintrifosfát (z angl. adenosine triphosphate)
BCRP	Breast Cancer Resistance Protein, ABCG2
cART	Kombinovaná antiretrovirální terapie, z angl. combination antiretroviral therapy
CCR5	C-C chemokinový receptor typu 5
CNS	Centrální nervová soustava
CNT	Koncentrativní nukleosidový transportér, z angl. concentrative nucleoside transporter
ENT	Ekvilibrativní nukleosidový transportér, z angl. equilibrative nucleoside transporter
HEB	Hematoencefalická bariéra
ITC	Mezinárodní transportérové konsorcium (International Transporter Consortium)
MATE1	Multidrug and toxin extrusion protein 1, SLC47A1
MDCKII	Madin-Darby canine kidney, buněčná linie
MRPs	Multidrug Resistance-Associated Proteins, ABCC podrodina transportérů
NNRTI	Ne-nukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy, z angl. non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor
NRTI	Nukleosidový/nukleotidový inhibitor reverzní transkriptázy, z angl. nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitor
OCT1	Transportér pro přenos organických kationtů, z angl. organic cation transporter 1, SLC22A1
OCT2	Transportér pro přenos organických kationtů, z angl. organic cation transporter 2, SLC22A2
OCT3	Transportér pro přenos organických kationtů, z angl. organic cation transporter 3, SLC22A3
OAT	Transportér pro přenos organických aniontů, z angl. organic anion transporter

OATP	Organické anionty transportující polypeptidy, z angl.. organic anion-transporting polypeptides
P-gp	P-glykoprotein, MDR1, ABCB1
PI	Inhibitor proteázy, z angl. protease inhibitor
SLC	„Solute Carrier“ rodina transportérů
TDF	Tenofovir disoproxil fumarát

2 Úvod

Od objevení viru HIV v roce 1983 došlo k významnému pokroku ve farmakologické léčbě HIV infekce. Dnešní klinicky užívaná antiretrovirální léčiva jsou podle mechanismu svého účinku řazena do šesti farmakoterapeutických skupin: nukleosidové/nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy (NRTIs), ne-nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy (NNRTI), inhibitory proteázy (PI), inhibitory HIV integrázy, inhibitory fúze a CCR5 (C-C chemokinový receptor typu 5) antagonisté [1, 2]. Léčiva z jednotlivých skupin potlačují odlišné kroky replikačního cyklu viru HIV [1]. Účinnost terapie závisí na udržení dostatečně vysokých hladin léčiv v plasmě a tkáních, potřebných k potlačení replikace HIV, a na schopnosti zamezit vývoji rezistentních virových kmenů. Při současném podávání tří nebo více antiretrovirotik z různých farmakoterapeutických skupin, tzv. kombinovaná antiretrovirální terapie (cART), bylo dosaženo výrazného snížení virové zátěže, zpoždění propuknutí virové rezistence a prodloužení účinnosti terapie [1, 3].

Použití cART v léčbě HIV pozitivních pacientů však často vede ke vzniku lékových interakcí, které mohou mít za následek subterapeutické nebo supratherapeutické koncentrace léčiv v organismu s následným selháním léčby, případně projevy toxicity [4, 5]. Kromě enzymů cytochromu P450 mají velký vliv na vznik lékových interakcí také lékové transportéry [2, 6-8]. Ty jsou exprimovány v řadě tkání lidského organismu; svou přítomností ve střevě, ledvinách a játrech ovlivňují absorpci i eliminaci mnoha endogenních i exogenních látek, včetně léčiv [9, 10]. Ve velké míře jsou také exprimovány ve fyziologických bariérách mezi krví a tkáněmi, např. v hematoencefalické, hematotestikulární a placentární bariéře, kde ovlivňují distribuci endogenních či exogenních látek [11-13]. Lékové transportéry tak svou funkcí významně ovlivňují farmakokinetiku léčiv.

Znalost interakcí jednotlivých antiretrovirálních látek s lékovými transportéry je tedy důležitá k zajištění bezpečné a účinné terapie HIV infekce [14]. Role lékových transportérů, jako hlavních faktorů ovlivňujících farmakokinetiku, bezpečnost a účinnost léčiv a jejich potenciál zprostředkovávat lékové interakce se v současnosti dostává do popředí zájmu regulačních autorit v rámci studií prováděných před uvedením léčiv do farmakoterapie [15-17].

3 Teoretická část

3.1 Lékové transportéry

Lékové transportéry jsou integrální membránové proteiny, které mají zpravidla 12 transmembránových domén (TMD), ačkoli existují i výjimky (např. 10, 11, 13 nebo 17 TMD) [18]. Podle směru transportu substrátů mohou být klasifikovány jako influxní nebo efluxní transportéry a jsou typicky lokalizovány buď v bazolaterální nebo apikální membráně polarizovaných buněk [7]. V lidském genomu bylo popsáno více než 400 membránových lékových transportérů [19]. Jsou děleny do dvou velkých skupin: „ATP-binding cassette“ (ABC) a „Solute Carrier“ (SLC) skupiny transportérů [2, 7]. ABC transportéry se skládají z 1 200 – 1 500 aminokyselinových zbytků s molekulovou hmotností v rozmezí 140 – 180 kDa, zatímco SLC transportéry z 300 – 800 aminokyselinových zbytků s molekulovou hmotností 40 – 90 kDa [18]. Následující kapitola obsahuje přehled lékových transportérů. Dále je zde, s ohledem na zaměření této práce, podrobně popsáno několik vybraných zástupců ABC i SLC skupiny transportérů, u nichž Mezinárodní transportérové konsorcium (International Transporter Consortium, ITC) doporučuje studium interakcí s léčivými [14], kvůli stanovení jejich farmakokinetických a bezpečnostních profilů.

3.1.1 ABC transportéry

ABC transportéry jsou primárně aktivní efluxní transportéry, které ke své funkci využívají energii získanou hydrolýzou ATP (adenosintrifosfát) [20]. Transportují substráty ven z buňky nebo z/do buněčných organel a to i proti značnému koncentračnímu gradientu [21-23]. Mezi jejich substráty patří mnoho strukturně odlišných léčiv, metabolitů a dalších látek jako cukry, anorganické ionty, aminokyseliny, proteiny, lipidy nebo komplexní polysacharidy [22-24]. Díky jejich expresi v různých tkáních lidského těla, především ve střevech, játrech, ledvinách a fyziologických bariérách, široce ovlivňují absorpci, distribuci, eliminaci i toxicitu svých substrátů [20, 22, 25]. Jejich exprese a aktivita v nádorových buňkách se také podílí na vzniku lékových rezistencí v terapii nádorových onemocnění [20, 25]. Bylo popsáno 49 lidských ABC transportérů, které jsou dále rozděleny do 7 podskupin v závislosti na podobnosti ve struktuře jejich genu, uspořádání domén a homologie aminokyselin [20, 26]. V této práci jsou dále popsány ABC transportéry, které hrají klíčovou roli při ovlivnění farmakokinetiky léčiv [14, 25].

3.1.1.1 *P-glykoprotein (ABCB1, MDR1, P-gp)*

P-glykoprotein (P-gp) je prvním identifikovaným a dosud nejlépe charakterizovaným membránovým transportérem, popsaným především pro svou schopnost způsobovat mnohočetnou lékovou rezistenci (MDR) nádorových buněk [27]. P-gp je tvořen polypeptidovým řetězcem obsahující 1 280 aminokyselin (170 kDa). Je složený ze dvou velmi podobných polovin, z nichž každá obsahuje šest transmembránových segmentů a intracelulární ATP-vázající doménu [22, 28, 29].

Nejvýraznější vlastností je rozmanitost chemických struktur jeho substrátů, které zahrnují široké množství léčiv z různých terapeutických skupin, např. cytostatika, antivirotika, antibiotika, analgetika, anthelmintika, antiepileptika, kortikoidy a další [22, 29]. Substráty jsou obvykle organické molekuly o velikosti 200 – 1 900 Da. Mnohé z nich obsahují aromatické skupiny a jsou většinou nenabitě nebo slabě bazické [22]. Jediným doposud popsaným společným znakem všech jeho substrátů je jejich amfifilní povaha [22, 30].

V organismu je P-gp exprimovaný nejen na povrchu mnoha nádorových buněk, kde byl původně objeven, ale především v epitelových a endotelových buňkách mnoha tkání a lokalizovaný v jejich apikální membráně [30, 31].

3.1.1.2 *Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2, BCRP)*

Další důležitý ABC transportér BCRP byl také objeven kvůli své schopnosti způsobovat MDR a to u nádorových buněk, u kterých nebyla zjištěna zvýšená exprese P-gp nebo MRP transportérů [32]. BCRP byl původně izolován z buněčné linie karcinomu prsu, odkud získal svůj název [22]. Je tvořený polypeptidovým řetězcem z 665 aminokyselin (72 kDa) a na rozdíl od P-gp obsahuje pouze šest transmembránových domén a jednu intracelulární ATP-vázající doménu [22, 29, 33]. Takovýto „poloviční transportér“ pak pro svou správnou funkci musí vytvořit homo-dimery spojené disulfidickými můstky [22, 29, 34].

BCRP vykazuje širokou substrátovou specifitu. Mezi jeho substráty patří kromě cytostatik i např. antivirotika, antibiotika, flavonoidy, hormony a další molekuly [25, 29]. Podílí se také na homeostáze kyseliny močové [35]. Mezi další endogenní BCRP substráty patří hem nebo porfyriny a díky své expresi v membráně myeloidních progenitorových buněk ovlivňuje jejich buněčnou homeostázu [36].

BCRP je exprimován v apikální membráně buněk mnoha různých fyziologických i patologických tkání [21]. Jeho funkční exprese byla nalezena na povrchu buněk mnoha různých krevních i solidních nádorů [34]. Ve velké míře je přítomen i v apikální membráně syncytiotrofoblastu lidské placenty [34], kde jeho exprese převyšuje i expresi P-gp [37]. Dále se ve vysoké míře nachází v apikální membráně hepatocytů, epitelových buněk tenkého a tlustého střeva a kapilárního a žilního endotelu [21, 22, 34].

3.1.1.3 Multidrug Resistance-Associated Proteins (ABCCs, MRPs)

V současnosti je popsáno devět členů této podskupiny ABC transportérů (MRP 1 – 9) [38]. Identifikace a charakterizace C podrodiny transportérů započala naklonováním a popsáním funkce prvního z nich, MRP1, v roce 1992 respektive 1994 [39]. Byl objeven kvůli své schopnosti způsobovat rezistenci na různá přírodní cytotoxická léčiva jako vinka alkaloidy nebo antracykliny u buněk, u kterých nebyla zjištěna zvýšená exprese P-gp [38, 39]. Ze schopnosti těchto transportérů způsobovat mnohočetnou lékovou rezistenci nádorových buněk je odvozeno označení celé podskupiny [39]. Tvoří je 1 325 až 1 545 aminokyselin (počet aminokyselin tvořících jednotlivé MRP viz článek Keppler, D. [39]). Strukturou jsou velmi podobné P-gp, obsahují 12 transmembránových domén a 2 intracelulární ATP-vázající domény (MRP4, 5, 8 a 9), ovšem MRP1, 2, 3, 6 a 7 obsahují navíc ještě pět transmembránových segmentů s volným NH₂ koncem [38, 40].

Jejich substráty jsou amfifilní organické anionty s molekulovou hmotností 300 – 1 000 Da, ovšem v přítomnosti redukovaného glutationu mohou transportovat také některé organické kationty [39, 40]. Transportují i další fyziologické substráty, jako konjugáty sulfátu, glukuronidy, cyklické nukleotidy, žlučové kyseliny, a dále některé přírodní či syntetické toxiny a léčiva (cytostatika, antivirotika) [39, 41]. Transportem redukovaných folátů se podílejí na udržování buněčné folátové homeostázy [41]. Hrají také významnou roli v patofyziologii, jelikož transportují prozánětlivé a imunomodulační mediátory jako leukotrieny a prostanoidy [39, 41].

MRP transportéry mohou být, v závislosti na typu buněk, exprimovány v apikální i v bazolaterální membráně (např. MRP4) [39]. Typickým bazolaterálně lokalizovaným transportérem z této podskupiny je MRP1, apikálně lokalizovaným pak MRP2 [38]. Přítomné jsou v mnoha různých orgánech a tkáních po celém těle a také na povrchu nádorových buněk [38, 39].

3.1.2 SLC transportéry

SLC transportéry využívají sekundárně nebo terciálně aktivní transport k přenosu substrátů přes biologické membrány [42]. Oproti efluxním ABC transportérům není jejich aktivita závislá na energii získané z hydrolýzy ATP a mohou fungovat jako influxní, efluxní i obousměrné transportéry [35]. Bylo popsáno více než 300 členů této transportérové rodiny, exprimovaných v mnoha tkáních a orgánech, například v játrech, ledvinách, mozku, srdci, plicích, placentě a ve střevě [13, 42, 43]. Některé z nich jsou relativně substrátově specifické a přenášejí endogenní sloučeniny jako cukry, aminokyseliny nebo nukleosidy. Ostatní, nazývané polyspecifické, vykazují širokou substrátovou specifitu, transportují rozsáhlé spektrum molekul různých chemických struktur a hrají podstatnou roli v eliminaci léčiv [13, 44].

Mezi nejvýznamnější podskupiny SLC transportérů patří OATP (organické anionty transportující polypeptidy), OCT, OAT (transportéry pro přenos organických aniontů), MATE, CNT (koncentrativní nukleosidové transportéry) a ENT (ekvilibrativní nukleosidové transportéry) [2, 42]. Transportéry OATP jsou glykoproteiny s 12 transmembránovými doménami exprimované v různých epiteliálních buňkách. Zprostředkovávají na sodíku nezávislý transport různých strukturně odlišných, převážně amfifilních, organických sloučenin, např. solí žlučových kyselin, hormonů a jejich konjugátů, různých toxinů a léčiv [45]. OAT jsou tvořeny 541 – 568 aminokyselinami a obsahují také 12 transmembránových domén. Všechny jsou exprimovány ve dvou hlavních exkretčních orgánech – játrech a ledvinách. Některé z nich také v epitelových buňkách různých bariér. Hrají tedy nezbytnou roli v distribuci a exkreci endogenních i exogenních organických aniontů [46]. Nukleosidové transportní proteiny CNT a ENT zprostředkovávají transport přirozených nukleosidů a nukleosidových analogů do buněk. Jejich exprese byla zaznamenána ve většině typů buněk a jejich fyziologická funkce ve velkém počtu z nich zůstává dosud neobjasněna. Zatímco CNT využívá pro svou aktivitu společného transportu s Na^+ , ENT může zprostředkovávat influx i eflux substrátů, v závislosti na jejich relativní koncentraci na obou stranách membrány [47]. S ohledem na zaměření práce jsou dále podrobněji popsány podskupiny OCT a MATE.

3.1.2.1 *Transportéry organických kationtů (SLC22As, OCTs)*

Tato podskupina zahrnuje tři zástupce, OCT1, OCT2 a OCT3 [43]. Zatímco OCT1 a OCT2 byly identifikovány pomocí homologního screeningu knihoven lidské cDNA, OCT3 byl poprvé klonován z nádorových buněk karcinomu ledvin [48]. Všechny tři subtypy se obvykle skládají z 550 – 560 aminokyselin, mají velice podobnou strukturu tvořenou z dvanácti

transmembránových domén, velké glykosylované extracelulární smyčky mezi první a druhou doménou a intracelulární smyčky s místy pro fosforylaci mezi doménami 6 a 7 [43, 48]. Transport jejich substrátů je elektrogenní, na sodíku nezávislý, a může být obousměrný. Hnací silou transportu je výhradně elektrochemický gradient transportovaných organických kationtů [44].

Jak vyplývá z názvu, OCT transportují především organické kationty, ovšem také některé slabě bazické látky, nenabitě látky či anionty, do buněk, nebo z nich ven do extracelulárního prostředí [44, 48]. Jedná se o endogenní (např. cholin, dopamin, prostaglandiny) nebo exogenní (např. prokainamid, chinin, cimetidin, biguanidy, antiarytmika, antivirotika) látky, které jsou při fyziologickém pH kladně nabitě [48]. Tyto látky mají různé chemické struktury, OCT jsou tedy označovány jako polyspecifické transportéry [48]. Rozhodující roli v navázání substrátů na transportér hraje stupeň ionizace [48]. Substráty a inhibitory jednotlivých OCT se široce překrývají, některé k nim ovšem mají různou afinitu [44]. Lidský OCT1 interaguje především s většími více hydrofobními látkami, zatímco OCT2 preferuje jako své substráty především menší hydrofilní látky [48].

Díky své expresi ve střevě, játrech a ledvinách hrají OCT transportéry stěžejní roli v absorpci a eliminaci léčiv [44]. Lidský OCT1, exprimovaný ve vysoké míře v sinusoidální membráně hepatocytů, a OCT2, exprimovaný převážně v bazolaterální membráně buněk proximálního tubulu, zprostředkovávají vstup mnoha organických kationtů do buněk ledvinných proximálních tubulů, resp. hepatocytů. Zajišťují tedy první krok v jejich ledvině či jaterní exkreci [43, 44]. Také OCT3 hraje roli v jaterní exkreci, dále navíc reguluje koncentraci organických kationtů a monoaminů v intersticiu srdce a CNS (centrální nervové soustavy) [44].

3.1.2.2 *Multidrug and toxin extrusion proteins (SLC47As, MATEs)*

Tyto transportéry byly poprvé popsány u bakterií v roce 1998. V roce 2005 byl poprvé identifikován a popsán lidský ortolog MATE1, krátce na to pak byly objeveny MATE2, MATE2-K a MATE2-B [49, 50]. Jedná se o transportéry, které pumpují své substráty ven z buněk v závislosti na pH gradientu [50]. Hnací silou transportu je tedy opačně směřovaný gradient vodíkových kationtů [51]. MATE1, kódovaný genem SLC47A1, je složený z 570 aminokyselin. Gen SLC47A2 produkuje 2 funkční izoformy: MATE2, tvořenou 602 aminokyselinami, a MATE2-K, skládající se z 566 aminokyselin [50, 51]. MATE2-K představuje aktivní formu genu SLC47A2, fyziologická role MATE2 a MATE2-B je dosud

nejasná [51]. Tyto proteiny tvoří třináct transmembránových domén, přičemž prvních dvanáct z nich je nezbytných pro správnou transportní funkci, poslední je pravděpodobně nutná pro syntézu a degradaci (tzv. protein turnover) [52].

Mezi izoformami MATE transportérů existuje veliký překryv v substrátové specifitě. Mezi jejich typické substráty patří organické kationty, lipofilní a pozitivně nabitě látky s molekulovou hmotností 50 – 500, (např. metformin, cimetidin, prokainamid) ovšem také některé anionty (např. estron sulfát, acyklovir nebo ganciklovir) [50, 51]. Svou substrátovou specifitou se značně překrývají i s OCT, transportují však také některé substráty OAT [50, 51].

Dosud byla funkce MATE transportérů nejlépe popsána v játrech a ledvinách, kde se společně s OCT podílejí na exkreci řady strukturně odlišných molekul, včetně léčiv, toxinů a endogenních látek [50]. Zatímco MATE1 je exprimován v apikální membráně hepatocytů i v apikální membráně buněk proximálního tubulu, MATE2-K vykazuje specifickou expresi pouze v ledvinách, a to na srovnatelné úrovni s MATE1 [50, 51]. Exprese MATE1 byla také popsána např. v kosterních svalech, nadledvinkách nebo v srdci a dále je společně s MATE2 exprimován v placentě [43, 50, 51, 53, 54].

3.2 Role lékových transportérů ve farmakokinetice

Lékové transportéry významně ovlivňují absorpci, distribuci a eliminaci léčiv. Tím regulují množství léčiv v systémové cirkulaci [55]. Jsou také místem vzniku lékových interakcí nebo interakcí mezi léčivy a endogenními látkami, což jsou procesy vedoucí ke vzniku toxických či jiných nežádoucích účinků léčiv [20].

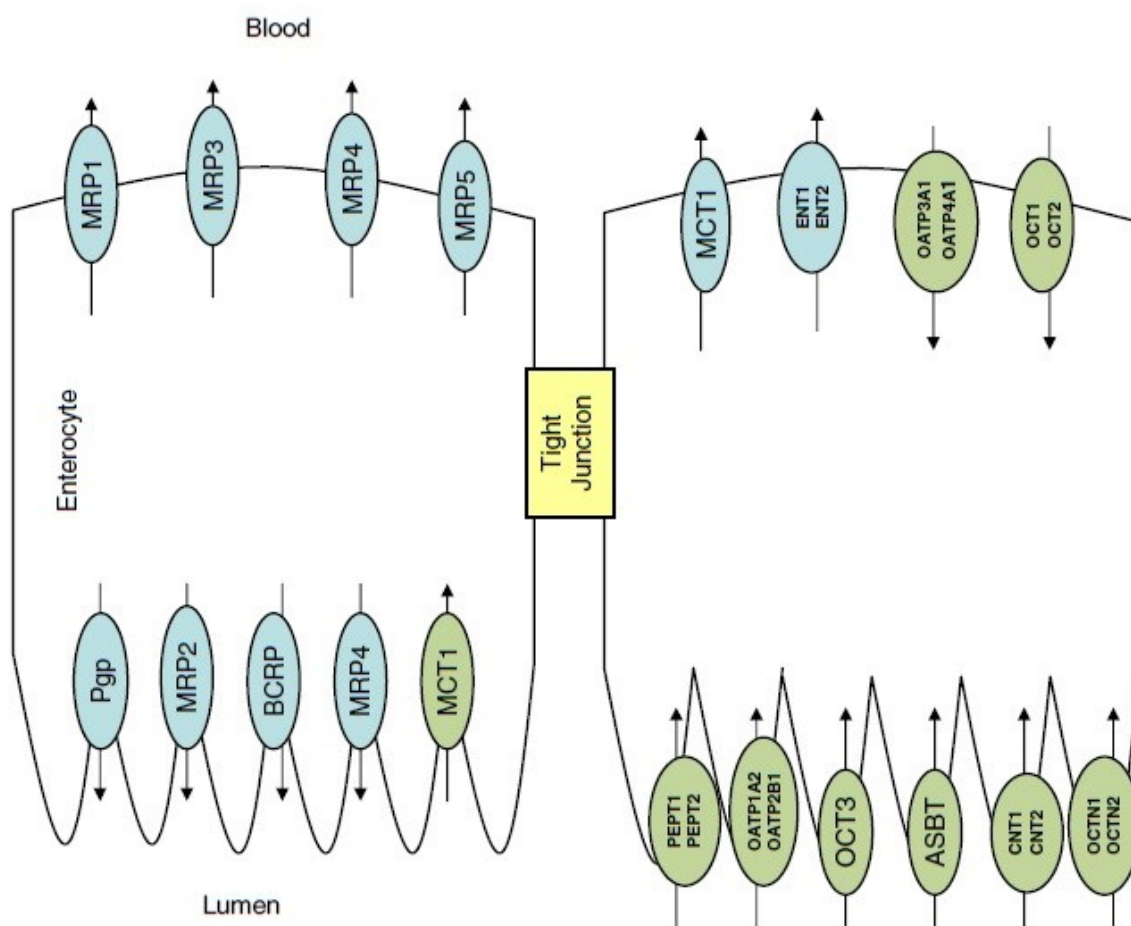
3.2.1 Absorpce

Nejčastějším a nejpoblárnějším typem aplikace léčiva je orální podání, jelikož je praktické, neinvazivní a mnoho léků je z gastrointestinálního traktu dobře absorbováno. Hlavním místem absorpce perorálně podaných léčiv je tenké střevo [9]. Ačkoli některá léčiva, především lipofilní, jsou absorbována pasivní difúzí, většina hydrofilních nebo nabitých sloučenin potřebuje ke své absorpci transportní proteiny [9, 42]. Lékové transportní proteiny exprimované v tenkém střevě tedy výrazně ovlivňují absorpci a tudíž i biologickou dostupnost svých substrátů [20]. Důležitou fyziologickou roli v kontrole absorpce a biodostupnosti léčiv hrají efluxní i influxní transportéry [55].

Efluxní ABC transportéry exprimované v apikální membráně enterocytů, především P-gp, BCRP, MRP2 a MRP4 (Obr. 1), tvoří bariéru pro absorpci různých toxinů, xenobiotik a jejich metabolitů [20, 56]. Představují tedy první linii obrany proti potenciálně toxickým či cizím sloučeninám [9]. Pumpují své substráty z intracelulárního prostoru enterocytů zpět do lumen střeva a limitují tak jejich biodostupnost [20]. Aktivitou střevních ABC transportérů dochází k opakovanému efluxu, následné reabsorpci látek, a tím i k prodloužení jejich kontaktu se střevními metabolizujícími enzymy, což vede k dalšímu snížení biologické dostupnosti [57]. Efluxní transportéry také pomáhají s aktivním přestupem látek, které jsou již přítomné v krevním oběhu, zpět do střevního lumen [9].

Střevní absorpce i sekrece různých látek, především však organických kationtů, je ovlivňována také polyspecifickými SLC transportéry. První krok v jejich absorpci z lumen střeva je zprostředkován transportéry lokalizovanými v apikální membráně, např. OCT3. Transport přes bazolaterální membránu, ke kterému je ovšem potřeba přibližně desetkrát větší rozdíl mezi intracelulární a extracelulární koncentrací substrátu, je potom zajišťován OCT1 [43]. Sekrece organických kationtů je zprostředkována společným působením OCT1 v bazolaterální membráně a dalšími transportéry v apikální membráně. Jsou jimi OCTN1, OCTN2, OCT3 a také ABC transportér P-gp [43].

Expresse lékových transportérů je odlišná v různých částech střeva [20], např. exprese P-gp stoupá od proximální po distální část střeva, zatímco exprese MRP2 ve stejném směru klesá [42]. Odchytky v hladinách exprese transportérů způsobují intra- a inter-individuální rozdíly v absorpci léčiv [56].



Obrázek 1. Schématické znázornění lékových transportérů v enterocytech. Převzato a upraveno podle [55].

3.2.2 Distribuce

Pro svůj účinek musí být léčivo zpravidla transportováno ze systémové cirkulace k místu svého účinku [20]. Lékové transportéry, díky své expresi v téměř všech orgánech a tkáních lidského organismu, významně ovlivňují transport a distribuci léčiv v těle [42].

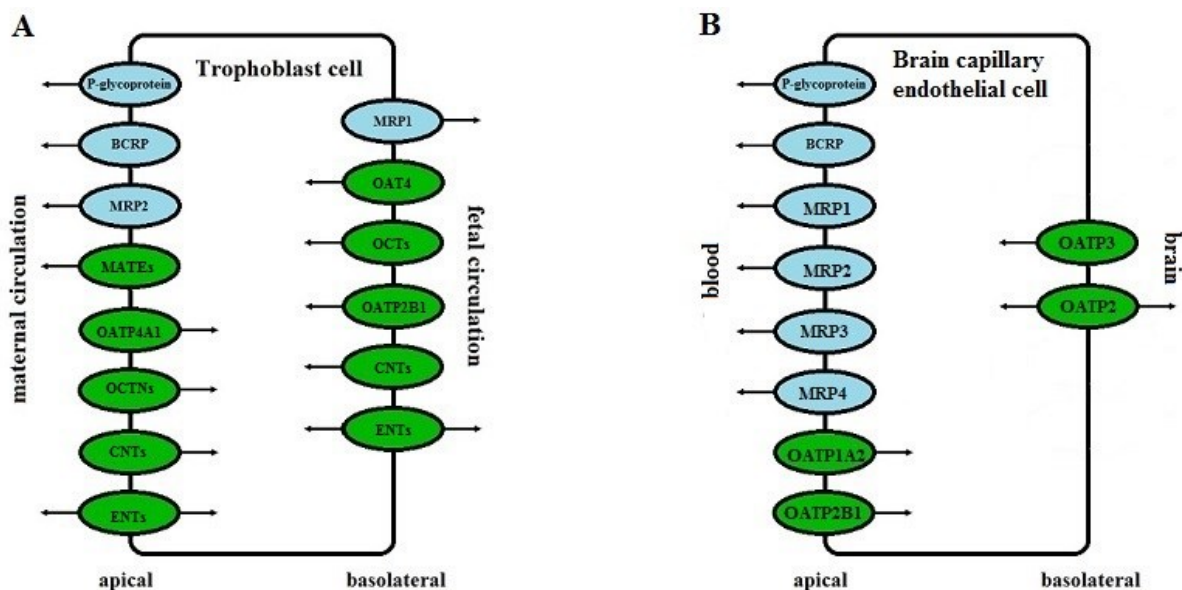
Jedním z častých cílů působení léčiv je CNS. Rozhraní mezi krví a CNS tvoří hematoencefalická bariéra (HEB). Je známo, že pro průnik přes HEB je nutná vysoká lipofilita léčiv, nicméně mnoho lipofilních léčiv přes ni přesto vykazuje nízký přestup. V současnosti se

již ví, že je to způsobeno efluxní aktivitou ABC lékových transportérů [20]. Hlavní bariéru přestupu těchto lipofilních i dalších léčiv do CNS představují P-gp, BCRP a MRP2 transportéry lokalizované v apikální membráně endotelových buněk mozkových kapilár (Obr. 2) [20]. Tím, že pumpují své substráty z endotelových buněk zpět do krevního řečiště, tyto transportéry sice chrání neuronální tkáň před toxickými účinky léčiv, zároveň však limitují průnik léčiv určených k léčbě CNS [20]. V současné době je popsáno a identifikováno mnoho dalších transportérů lokalizovaných v apikální nebo bazolaterální membráně endotelových buněk mozkových kapilár, dále také v buňkách choroidního plexu a v dalších oblastech mozku [42, 43]. Kromě ABC transportérů i některé SLC transportéry (např. OCT, OAT nebo CNT a ENT) ovlivňují přestup endogenních a exogenních látek přes HEB [11]. Jelikož OCT hrají roli také v modulování mozkových funkcí, pravděpodobně kvůli jejich efektu na extracelulární koncentraci neurotransmiterů a ovlivňování membránového potenciálu v neuronech, mohou být cílem při léčbě onemocnění CNS [43].

Také v dalších orgánech a tkáních ovlivňují lékové transportéry distribuci léčiv a chrání před průnikem potenciálně toxických látek. Ve varlatech exprimovaný BCRP je důležitý v omezení přestupu těchto látek přes hematotestikulární bariéru [42]. Lékové transportéry exprimované v srdeční tkáni chrání srdce proti potenciálně toxickým sloučeninám a obzvláště srdeční MRP transportéry ovlivňují i distribuci léčiv do srdeční tkáně [58]. Polyspecifické transportéry organických kationtů exprimované v plicích hrají významnou roli v plicní distribuci především organických kationtů, ale i jiných látek [43]. Evidentní je také funkce lékových transportérů v ochraně prostaty [59]. Dále je exprese lékových transportérů v různých orgánech spojena s regulací jejich fyziologických funkcí [58]. Ve varlatech hrají roli v udržení správného fyziologického vývoje spermií, např. OCTN2 zajišťuje vychytávání karnitinu a acetylkarnitinu nutných pro správné utváření a zrání spermií a udržení kvality spermatu [42].

V neposlední řadě lékové transportéry kontrolují přestup mnoha látek přes placentu a hrají zásadní roli v ochraně plodu před toxiny [13]. Polarizované buňky trofoblastu placenty exprimují mnoho transportních proteinů lokalizovaných v apikální mikrovilózní membráně, (omývané mateřskou krví) nebo v bazální (směrem k fetálnímu oběhu obrácené) membráně (Obr. 2) [13]. Efluxní ABC transportéry v placentě pumpují své substráty ven z buněk trofoblastu do mateřské (P-gp, BCRP a MRP2) nebo fetální (MRP1) cirkulace. Představují tak hlavní aktivní složku placentární bariéry. Placentární SLC transportéry většinou usnadňují na energii nezávislý vstup hydrofilních nebo nabitých molekul do buněk trofoblastu, kde jsou

zpracovány (např. k syntéze placentárních hormonů) nebo transportovány ven z buněk dalšími ABC nebo SLC transportéry [13].



Obrázek 2 schématické znázornění lékových transportérů v buňce trofoblastu (A) a v endoteliální buňce mozkových kapilár (B). Převzato a upraveno z [13, 14, 60, 61].

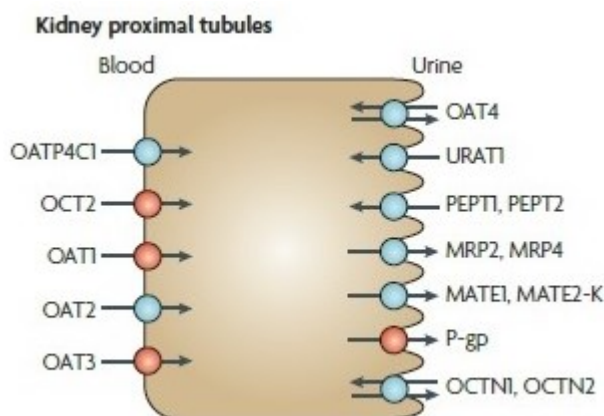
3.2.3 Exkrece

Ledviny představují spolu s játry klíčový orgán zajišťující exkreci léčiv z těla [62]. Léčiva jsou exkretována převážně do moči a/nebo žluči, jejich celková exkrece je tedy součtem ledvinné a jaterní exkrece, jež je regulována především afinitou a kapacitou lékových transportérů v ledvinách a játrech [63]. Pro většinu léčiv představují ledviny hlavní cestu exkrece z organismu [64].

Mezi hlavní funkce ledvin patří udržování homeostázy vody a elektrolytů, kromě toho ovšem hrají důležitou roli v exkreci mnoha endogenních a exogenních látek [10]. V ledvinách je exkrece těchto látek a jejich metabolitů z těla ovlivňována glomerulární filtrací, tubulární sekrecí, reabsorpcí, nebo jejich kombinací [63]. Proces tubulární sekrece zahrnuje přestup látek z krve do buněk proximálního tubulu přes bazolaterální membránu a přechod z buňky do lumen tubulů přes apikální membránu. Reabsorpce potom probíhá v opačném směru [62]. Tubulární sekrece i reabsorpce mohou probíhat pasivní difúzí, ovšem velmi často jsou zprostředkovány lékovými transportéry, které transportují látky přes membrány i proti směru koncentračního gradientu [62, 63]. K rychlé exkreci různých látek a jejich metabolitů z těla mají tedy ledviny vyvinuté vysokokapacitní transportní systémy (Obr. 3) [65]. Na základě jejich substrátové

specifity bývají transportní systémy v ledvinách klasifikovány jako systémy pro organické anionty nebo kationty [10]. Tubulární sekrece organických kationtů u lidí je zprostředkovávána především vektoriálním transportem látek pomocí OCT2, lokalizovaného v bazolaterální membráně buněk proximálního tubulu, a efluxem pomocí MATE1 a MATE2-K, lokalizovaných v apikální membráně [64]. Exkreci větších a více hydrofobních kationtů dále usnadňuje také P-gp, lokalizovaný v apikální membráně [64]. V tubulární sekreci organických aniontů potom hrají nejvýznamnější roli OAT1 a 3, lokalizované v bazolaterální membráně, a MRP2 a 4, lokalizované v apikální membráně [64]. Mezi další lékové transportéry exprimované v ledvinách patří např. OAT3 nebo ENT1 a 2, lokalizované v bazolaterální membráně, a CNT1, 2, 3 nebo BCRP, které jsou lokalizovány v apikální membráně buněk proximálního tubulu [62].

Transportéry zprostředkovaná aktivní sekrece a reabsorpce léčiv významně ovlivňuje exkreci mnoha endogenních i exogenních látek a jejich metabolitů. Změny v rovnováze jejich transportu z krve do buněk a z buněk do lumen mohou vyústit v jejich akumulaci v buňkách ledvin, vedoucí až k lokální toxicitě [65]. Také lékové interakce na těchto transportérech mohou mít podobné důsledky (podrobněji viz kapitola 3.3), jako například renální toxicitu nebo zvýšenou akumulaci léčiva v organismu [65]. Ledvinné transportéry tedy hrají zásadní roli v ledvinné exkreci léčiv. Jakékoli ovlivnění aktivity nebo exprese těchto transportérů může ovlivnit farmakokinetiku a tím i bezpečnost a účinnost podaných léčiv [65].

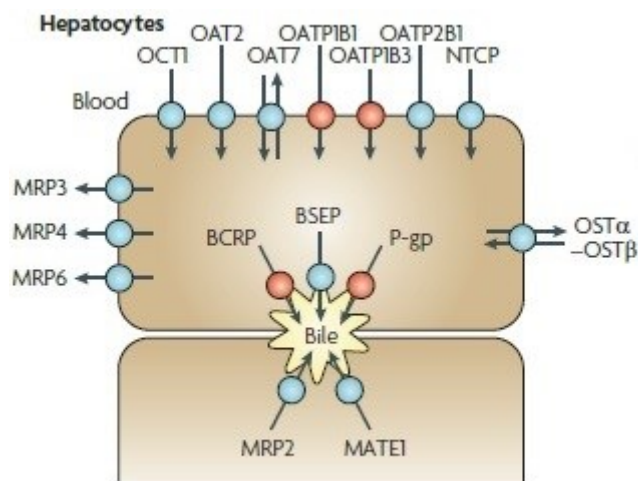


Obrázek 3. Schématické znázornění lékových transportérů v buňce proximálního tubulu. Převzato z [14].

Také lidská játra obsahují množství různých ABC i SLC transportérů (Obr. 4) [66]. Většina z nich hraje klíčovou roli v zajištění fyziologických funkcí jater, některé ovšem také transportují exogenní sloučeniny a jejich metabolity [66]. Při exkreci těchto látek játry zajišťují lékové transportéry jak jejich vstup do hepatocytu, tak exkreci do žluče [63]. Vychytávání látek ze systémové cirkulace do hepatocytů probíhá přes sinusoidální (bazolaterální) membránu [67].

Fyzikálně-chemické vlastnosti dovolují mnoha látkám transport pasivní difúzí, nicméně mnoho léčiv vstupuje do hepatocytů pomocí lékových transportérů [67]. Při biliární exkreci dochází k přestupu látek přes apikální membránu a tento přestup je zprostředkováván především lékovými transportéry [67]. Rychlost jaterní exkrece je dále také ovlivňována aktivitou některých transportérů lokalizovaných v sinusoidální membráně, které pumpují látky z hepatocytů zpět do krve [63]. Absorpci různých sloučenin ze systémové cirkulace do hepatocytů ovlivňují lékové transportéry exprimované v sinusoidální (bazolaterální) membráně, jsou to především OCT1, OAT2 a OAT3 nebo OATP1B1 a OATP1B3 [67, 68]. Transport látek z hepatocytů zpět do krve je zprostředkováván např. MRP3 a MRP4 transportéry, lokalizovanými také v sinusoidální membráně [68]. Eliminaci látek z hepatocytů do žluče pak zajišťují efluxní transportéry exprimované v apikální membráně, např. P-gp, MRP2, BCRP nebo MATE1 [14, 67, 68].

Lékovými transportéry zprostředkovaná absorpce a biliární exkrece určují koncentraci léčiv v játrech i v systémové cirkulaci a mohou ovlivnit farmakologický (případně toxický) efekt léčiva [63]. Hepatobiliární transport může tedy být určujícím faktorem pro farmakokinetiku léčiv a xenobiotik, stejně jako pro jejich expozici v játrech, a ovlivnit jejich bezpečnost a účinnost [66].



Obrázek 4. Schématické znázornění lékových transportérů v hepatocytech. Převzato z [14].

3.3 Role lékových transportérů ve vzniku lékových interakcí

V současné lékařské praxi je poměrně běžné u většiny pacientů užívání více léků najednou, tzv. polypragmázie. To s sebou ale přináší zvýšené riziko vzniku nežádoucích lékových interakcí [7]. Žádoucí i nežádoucí účinky léků jsou obecně spojeny s jejich koncentrací v místě účinku, která je závislá na podané dávce a na farmakokinetice daného léku [16]. Jelikož lékové transportéry významným způsobem ovlivňují farmakokinetiku léčiv (viz. kapitola 3.2), hrají velký význam ve vzniku lékových interakcí [7]. Ovlivnění funkce lékových transportérů jinými společně podávanými léčivy, například jejich inhibice nebo indukce, může způsobit změny ve farmakokinetice původního léčiva, změnit jeho koncentraci v místě účinku a tím ovlivnit jeho účinnost a bezpečnost [7, 16]. Klinicky se pak tyto interakce projeví snížením až ztrátou účinku léku nebo zvýšeným výskytem nežádoucích účinků, který je nebezpečný především u léčiv s úzkým terapeutickým indexem [7]. Proto je studium interakčního potenciálu nových léků důležité a stává se nedílnou součástí vývoje a registračního procesu před uvedením na trh [69]. Na doporučení ITC jsou v současnosti lékové interakce zprostředkované transportéry rutinně sledovány při procesu schvalování léků [14].

Lékové transportéry zajišťují transport široké škály různých léků a jejich metabolitů z buněk nebo do buněk [8]. Jsou ve velké míře exprimovány v orgánech ovlivňujících farmakokinetiku léčiv, jako je tenké střevo, játra a ledviny (viz. kapitola 3.2). V tenkém střevě zajišťují transport léčiv do enterocytů nebo jejich eflux zpět do střevního lumen. V játrech usnadňují vychytávání léčiv z krve do hepatocytů a následnou sekreci do žluče a v ledvinách potom vstup z krve do buněk proximálního tubulu ledvin a následný eflux do luminu tubulů [8]. Ke vzniku farmakokinetických lékových interakcí tedy dochází, jestliže je jeden nebo více těchto procesů ovlivněno dalším léčivem [8].

Lékové interakce na úrovni absorpce

K dosažení systémové cirkulace musí perorálně podaná léčiva přejít přes střevní stěnu, složenou z polarizovaných enterocytů, které jsou spojeny těsnými vazbami (tzv. tight junctions) a exprimují množství lékových transportérů (viz. kapitola 3.2.1). Efluxní transportéry, jako například P-gp, BCRP nebo MRP2, exprimované v apikální membráně enterocytů, omezují biodostupnost svých perorálně podaných substrátů. Inhibice těchto transportérů jinými současně podávanými léky vede ke zvýšení biodostupnosti původního léku, zatímco jejich indukce vede k jejímu snížení [70, 71]. Díky své široké substrátové specifitě hraje významnou roli ve vzniku lékových interakcí na úrovni absorpce především P-gp [8]. Například změna

v expresi nebo funkci P-gp má zásadní dopad na farmakokinetiku digoxinu, který je jeho substrátem, a kvůli úzkému terapeutickému indexu může být i malá změna v jeho plasmatické koncentraci klinicky relevantní [72-74]. Greiner et al. ve své práci popsal indukci střevního P-gp jako mechanismus vzniku lékové interakce mezi rifampicinem a digoxinem, což může klinicky vést až ke snížení účinku digoxinu [75]. Naopak chinidin, jako inhibitor P-gp, výrazně zvyšuje plasmatické hladiny digoxinu a tato léková interakce je často doprovázena vznikem až závažných nežádoucích účinků (např. život ohrožující arytmie) [76, 77].

Lékové interakce na úrovni distribuce

Lékové transportéry jsou exprimovány v celé řadě orgánů a tkání lidského těla, včetně bariér mezi krví a tkáněmi nebo v placentě, a díky tomu mohou široce ovlivňovat transport a distribuci absorbovaných léčiv v lidském organismu [42] (viz. kapitola 3.2.2). Transportéry zprostředkované lékové interakce mohou ovlivnit distribuci léčiv do konkrétních orgánů a tkání (např. CNS) a současně ovlivnit nebo neovlivnit jejich koncentraci v plasmě [78].

P-gp hraje významnou roli v omezení průniku léčiv do CNS. Byla publikována celá řada studií popisujících ovlivnění farmakokinetiky psychofarmak, která jsou substráty P-gp, jinými současně podávanými léky [79]. Tyto lékové interakce mohou představovat problém, neboť dochází k vyššímu průniku psychofarmak do CNS a zvyšuje se tím riziko vzniku závažných nežádoucích účinků (např. ataxie, sedace, halucinace) [79]. Inhibitory P-gp mohou také značně zvýšit riziko vzniku centrálních nežádoucích účinků léčiv, která normálně nepronikají přes HEB a nemají centrální účinky, posílením jejich distribuce do CNS [78]. Na druhou stranu, lékové interakce na P-gp v HEB mohou mít i pozitivní efekt. Inhibicí P-gp v HEB se zvýší distribuce léčiv, která jinak špatně pronikají přes HEB, do mozku, např. chemoterapeutika (paklitaxel, imatinib), antiretrovirotika (nelfinavir, saquinavir) nebo antiepileptika (lamotrigin, karbamazepin), a zvyšuje se tak jejich účinek [78].

Transportéry způsobené lékové interakce mají velký vliv i na distribuci léčiv přes placentu. Efluxní lékové transportéry v placentě přenášejí své substráty z trofoblastu zpět do mateřské cirkulace a tím do určité míry chrání plod před jejich potenciálně škodlivým vlivem [61]. Existují však situace, při kterých je přestup léčiv přes placentu žádoucí (např. terapie HIV nebo fetální arytmie). Některá léčiva používaná v terapii HIV přestupují přes placentu obtížně, což je vysvětlováno jejich afinitou k lékovým transportérům (jsou jejich substráty) [13]. Jiná antiretrovirotika jsou popsány jako inhibitory lékových transportérů - jejich kombinace vede ke

vzniku lékových interakcí, které ve výsledku zvyšují jejich přestup přes placentu a tím dochází také k jejich vyšší koncentraci v plodu a tím pádem i lepší účinnosti terapie [13].

Lékové interakce na úrovni eliminace

Játra jsou hlavním orgánem zodpovědným za first-pass eliminaci perorálně podaných léků stejně jako za clearance léků ze systémové cirkulace [8]. Po absorpci a průchodu portální žílou dosáhne léčivo bazolaterální membrány hepatocytů. Inhibice nebo indukce transportérů exprimovaných v této membráně, jako např. OCT1 nebo OATP1B1 (podrobněji v kapitole 3.2.3), ovlivní transport jejich substrátů do hepatocytů. Inhibice nebo indukce transportérů exprimovaných v apikální membráně, jako např. P-gp, BCRP, MRP2 nebo MATE1, ovlivní transport jejich substrátů z hepatocytů do žluče [71]. Lékové interakce vznikající v játrech jsou opět dobře popsány na příkladu interakce digoxinu s P-gp. V několika studiích bylo popsáno, že společné podání chinidinu nebo verapamilu s digoxinem snižovalo jeho jaterní clearance, avšak molekulární mechanismus těchto interakcí v nich nebyl objasněn [80, 81]. Až později byly chinidin a verapamil identifikovány jako silné inhibitory transportu digoxinu zprostředkovaného P-gp [82].

Inhibicí lékových transportérů exprimovaných v buňkách proximálního tubulu ledvin, jako např. OCT2, MATE1 nebo MATE2-K (podrobněji v kapitole 3.2.3), jinými současně podanými léky může dojít ke snížení ledvinné exkrece mnoha léčiv [8, 71]. Například cimetidin, který je inhibitorem OCT2, snižuje ledvinnou exkreci metforminu, substrátu OCT2, a tím zvyšuje jeho plazmatické hladiny [8, 83]. Dále také snižuje renální clearance OCT2 substrátů, např. ranitidinu a vareniklinu [84, 85]. Ve studii provedené na MATE1 (-/-) knockoutovaných myších byla renální clearance metforminu snížena a jeho systémová koncentrace a akumulace v ledvinách zvýšena [86]. Tyto výsledky naznačují, že MATE1 se spolu s OCT2 může významně podílet na ledvinné exkreci metforminu a jiných organických kationtů, jak bylo potvrzeno v dalších studiích [87, 88]. Cimetidin tedy snižuje eliminaci metforminu inhibicí OCT2 i MATE1. Je zajímavé, že v nízkých koncentracích preferenčně inhibuje pouze MATE1 a OCT2 inhibuje až ve vyšších koncentracích [89, 90]. Dále bylo prokázáno, že OCT2 má zásadní vliv na akumulaci cisplatinu v ledvinách a na její následný nefrotoxický efekt, a proto by mohla inhibice OCT2 mít renoprotektivní efekt při léčbě cisplatinou [91, 92]. Cimetidin, jako inhibitor OCT2, byl schopný zvrátit cytotoxický efekt cisplatinu *in vitro*, a také *in vivo* studie na myších a potkanech prokázaly pozitivní vliv cimetidinu na nefrotoxický efekt cisplatinu [93].

Eliminace digoxinu z těla probíhá převážně ledvinami [94]. Podání chinidinu, inhibitoru P-gp, snižuje ledvinnou clearance společně podaného digoxinu [95]. Inhibice renální clearance digoxinu chinidinem tedy dále přispívá ke zvýšení jeho systémové koncentrace. Tato léková interakce je komplexní, jak na úrovni absorpce ve střevě, tak na úrovni jaterní a ledvinné eliminace. V klinických studiích bylo prokázáno, že renální clearance digoxinu snižují kromě chinidinu také další P-gp inhibitory, například ritonavir nebo itrakonazol [96, 97]. Kromě P-gp je i mnoho jiných lékových transportérů exprimováno ve více tkáních a orgánech, a proto se mohou i jimi zprostředkované lékové interakce, podobně jako interakce digoxinu s chinidinem, vyskytnout na úrovni více orgánů najednou.

Znalost interakcí antiretrovirotik s lékovými transportéry je důležitá pro bezpečnou a účinnou terapii HIV infekce. Role transportérů ve vzniku lékových interakcí antiretrovirotik je poměrně obsáhle a komplexně popsána například v článku Kis et al. [2].

3.4 Kombinovaná antiretrovirální terapie (cART)

V roce 2014 žilo na světě přibližně 36,9 milionu lidí s infekcí HIV-1. Ve stejném roce 1,2 milionu lidí zemřelo na komplikace spojené s AIDS [98]. Dosud byly identifikovány dvě varianty viru HIV (HIV-1 a HIV-2), přičemž HIV-1 varianta je převládající a způsobuje celosvětově většinu infekcí, zatímco HIV-2 se vyskytuje především v západní Africe [99].

Od objevení viru HIV došlo k výraznému pokroku v léčbě HIV infekce [98]. Současná farmakoterapie zahrnuje použití léčiv ze šesti různých farmakodynamických skupin: nukleosidové/nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy (NRTI), ne-nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy (NNRTI), inhibitory proteázy (PI), inhibitory HIV integrázy, inhibitory fúze a CCR5 antagonisté (Tabulka 1), přičemž léčiva z jednotlivých skupin potlačují odlišné kroky replikačního cyklu viru HIV [1, 98].

Kombinovaná antiretrovirální terapie (cART) je léčebný režim, který zahrnuje použití minimálně tří antiretrovirotik z alespoň dvou různých skupin [3, 98]. Současná doporučení mohou být obecně popsána jako použití dvou NRTI a dalšího léčiva, typicky buď NNRTI, PI nebo inhibitoru HIV integrázy [4, 98]. Farmakoterapie HIV infekce ve formě kombinované antiretrovirální terapie je efektivní v potlačení množství viru v plazmě, ve zpoždění vzniku virové rezistence a významně snižuje mortalitu HIV pozitivních pacientů [3]. Nicméně použití cART nevede k úplné eradikaci viru a léčba může selhat kvůli několika faktorům, kterými jsou vedlejší účinky léčiv, vznik lékových interakcí, perzistence viru v buňkách nebo nedostatečná koncentrace antiretrovirotik v určitých tkáních, jež mohou způsobit vznik virové rezistence a návrat infekce [100, 101]. Současná cART dokáže efektivně snížit hladiny virové RNA v krvi pod 50 kopií/ml, což je spodní detekční limit většiny komerčně dostupných testů schválených pro klinické použití, nicméně pokud je léčba přerušena, dochází opět poměrně rychle (během dvou týdnů) k nárůstu hladiny virové RNA na detekovatelnou úroveň [102].

Ačkoliv je současná terapie HIV infekce efektivní a prodlužuje život infikovaných pacientů, není bohužel zatím kurativní [101]. Navíc, léčba HIV infekce v některých tkáních, jako je například mozek nebo varlata, je přinejmenším stále problematická a zůstává výzvou do budoucna, neboť antiretrovirotika vykazují nízký přestup přes hematoencefalickou případně hematotestikulární bariéru [98]. Jejich distribuce a účinnost v různých tkáních může být ovlivněna nejenom jejich metabolismem a vazbou na plazmatické bílkoviny, ale také aktivitou lékových transportérů [2]. Z toho důvodu je znalost interakcí antiretrovirotik s lékovými transportéry důležitá pro efektivní a bezpečnou farmakoterapii HIV infekce.

Předmětem této práce bylo studium interakcí několika antiretrovirotik s vybranými lékovými transportéry. Antiretrovirotika, která jsme studovali, jsou dále popsána podrobněji.

Tabulka 1 Rozdělení klinicky schválených antiretrovirotik

Léky k terapii HIV schválené FDA			
Farmakoterapeutická skupina	Generický název	Obchodní název	Datum schválení
Nukleosidové/nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy (NRTI)	abakavir (ABC)	Ziagen	17. prosinec, 1998
	didanosin (ddl)	Videx	9. říjen, 1991
		Videx EC (enterosolventní)	31. říjen, 2000
	emtricitabin (FTC)	Emtriva	2. července, 2003
	lamivudin (3TC)	Epivir	17. listopad, 1995
	stavudin (d4T)	Zerit	24. červen, 1994
	tenofovir disoproxil fumarát (TDF)	Viread	26. říjen, 2001
	zidovudin (AZT, ZDV)	Retrovir	19. březen, 1987
Ne-nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy (NNRTI)	efavirenz (EFV)	Sustiva	17. září, 1998
	etravirin (ETR)	Intelence	18. leden, 2008
	nevirapin (NVP)	Viramune	21. leden, 1996
		Viramune XR (s prodlouženým uvolňováním)	25. březen, 2011
	rilpivirine (RPV)	Edurant	20. květen, 2011
Inhibitory proteázy (PI)	atazanavir (ATV)	Reyataz	20. červen, 2003
	darunavir (DRV)	Prezista	23. červen, 2006
	fosamprenavir (FOS-APV, FPV)	Lexiva	20. říjen, 2003
	indinavir (IDV)	Crixivan	13. březen, 1996
	nelfinavir (NFV)	Viracept	14. březen, 1997
	ritonavir (RTV)	Norvir	1. březen, 1996
	saquinavir (SQV)	Invirase	6. prosinec, 1995
	tipranavir (TPV)	Aptivus	22. červen, 2005
Inhibitory fúze	enfuvirtid (T-20)	Fuzeon	13. březen, 2003
Inhibitory HIV integrázy	dolutegravir (DTG)	Tivicay	13. srpen, 2013
	elvitegravir (EVG)	Vitekta	24. září, 2014
	raltegravir (RAL)	Isentress	12. říjen, 2007
CCR5 antagonisté	maraviroc (MVC)	Selzentry	6. srpen, 2007

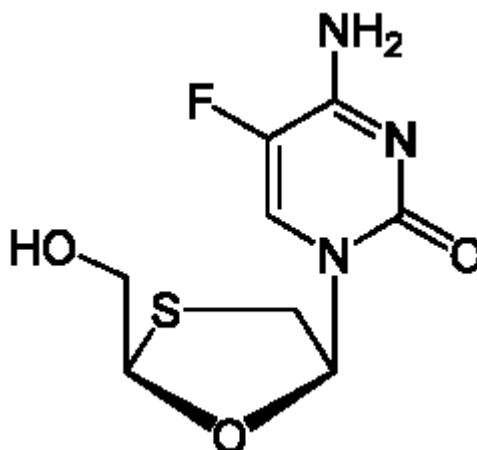
Převzato a upraveno z <https://aidsinfo.nih.gov/education-materials/fact-sheets/21/58/fda-approved-hiv-medicines#>

3.4.1 Přehled antiretrovirotik studovaných v rámci této práce

Studovaná antiretrovirotika byla vybrána s ohledem na stav současného poznání jejich interakcí s různými lékovými transportéry. Vybrali jsme již registrované a rutinně používané látky, u kterých však dosud nebyly uspokojivě popsány interakce s některými z lékových transportérů (případně jsou dostupné informace rozporuplné) a u kterých by mohly tyto případné interakce významně ovlivnit jejich farmakokinetiku a tím vést ke vzniku lékových interakcí.

3.4.1.1 Emtricitabin

Emtricitabin (Obr. 5) je pyrimidinové NRTI aktivní proti virům HIV-1, HIV-2 a viru hepatitidy B [103]. Stejně jako jiná NRTI, je emtricitabin proléčivo, které musí být v buňkách fosforylováno na svou aktivní formu – emtricitabin 5'-trifosfát (E-TP), jenž je následně pomocí reverzní transkriptázy začleněn do vznikajícího řetězce virové DNA, což vede k přerušení syntézy DNA, jelikož na E-TP se v poloze 3 již další nukleotid nemůže navázat [104, 105].



Obrázek 5 Struktura emtricitabinu

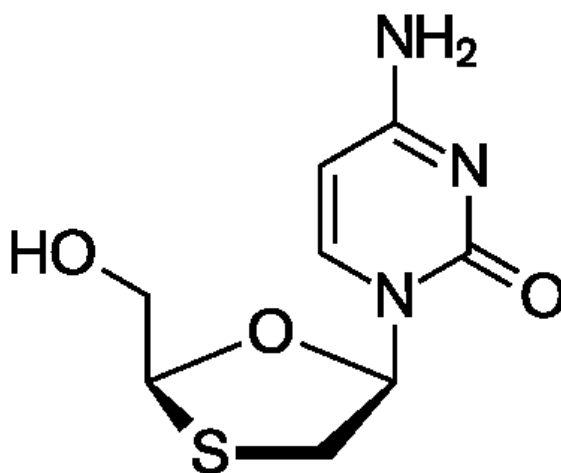
Emtricitabin je po perorálním podání dobře absorbován. Jeho absorpce není ovlivněna jídlem a vykazuje lineární farmakokinetiku při podané dávce v rozmezí 100 – 1200 mg. Při opakovaném podávání dávky 200 mg jednou denně dosahuje jeho průměrná koncentrace v plasmě v ustáleném stavu přibližně 2 µg/ml. Obsah plochy pod křivkou (AUC) dosahuje průměrně 9 – 10 µg.h/ml a průměrný eliminační poločas ($t_{1/2}$) je 8–9 hodin. Ovšem eliminační poločas emtricitabin trifosfátu uvnitř buněk je přibližně 38 hodin [103]. Emtricitabin je exkretován převážně močí v nezměněné podobě, a proto musí být jeho dávky redukovány u pacientů s poruchou funkce ledvin [106].

Emtricitabin se používá v terapii HIV infekce i v prevenci přenosu viru mezi dospělými osobami, navíc se také používá při léčbě HIV pozitivních žen a v prevenci přenosu viru z matky na dítě [4, 107]. Je hojně používán ve fixní kombinaci s TDF, dále se také podává společně s efavirenzem a nově také s rilpivirinem, elvitegravirem nebo kobicistatem [4].

V dostupné literatuře jsou informace ohledně interakce emtricitabinu s lékovými transportéry poměrně omezené a byly studovány především na úrovni inhibice. Emtricitabin byl popsán jako inhibitor lidských MRP1, 2 a 3, ale neinhiboval P-gp ani BCRP [108-110]. Jeho inhibiční vliv na OCT1, 2 a 3 byl objasněn v práci Minuesa et al., ovšem Jung et al. ve své práci inhibici OCT1 ani OCT2 nepozoroval [111, 112]. Dále byl emtricitabin popsán jako substrát MRP1 a také pravděpodobně některého z OCT [113-115]. Avšak v jiné studii nebyl emtricitabin prokázán jako substrát OCT1 ani OCT2 *in vitro* [112]. V článku I této práce jsme se proto snažili objasnit, zda je emtricitabin substrátem OCT1 a/nebo OCT2 a dále zjistit, zda je substrátem P-gp, BCRP, MRP2 a/nebo MATE1.

3.4.1.2 Lamivudin

Lamivudin (Obr. 6), další léčivo ze skupiny NRTI, je syntetický analog cytidinu a svou chemickou strukturou je velmi podobný emtricitabinu. Má silný účinek proti virům HIV-1, HIV-2 a také viru hepatitidy B. Podobně jako emtricitabin a další NRTI, prodělává lamivudin uvnitř buněk fosforylaci na svou aktivní formu lamivudin-trifosfát (3TC-TP). Mechanismus účinku je taktéž obdobný a spočívá v ukončení syntézy DNA řetězce po začlenění 3TC-TP místo endogenního cytidin trifosfátu pomocí virové reverzní transkriptázy [116, 117].



Obrázek 6 Struktura lamivudinu

Lamivudin je dobře absorbován. Přes střevní stěnu prochází pasivní difúzí a jeho biologická dostupnost se pohybuje okolo 86 %. Po perorálním podání dosahuje maximálních koncentrací v plazmě za 0,5 až 1,5 hodiny. Současné podání jídla prodlužuje T_{max} , ovšem hodnoty AUC nejsou změněny, tudíž se lamivudin může podávat nezávisle na jídle [118]. Je široce distribuován po celém organismu (s výjimkou cerebrospinální tekutiny). Jeho koncentrace v cirkulaci plodu dosahuje téměř totožných hodnot jako v mateřské cirkulaci [117, 119]. Eliminace lamivudinu probíhá primárně ledvinami, a to glomerulární filtrací i aktivní tubulární sekrecí. Jeho dávky proto musí být redukovány u pacientů s poruchou funkce ledvin [120]. Jeho průměrný eliminační poločas ($t_{1/2}$) je 5–7 hodin, ovšem eliminační poločas aktivní formy (3TC-TP) uvnitř buněk je průměrně 15,3 hodin [121, 122].

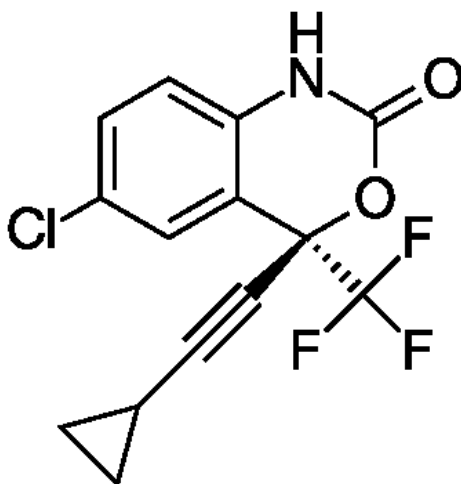
Lamivudin je účinné antiretrovirotikum a představuje jedno ze základních léčiv používaných v současné cART [4, 116]. Je také široce používán k prevenci přenosu viru z matky na dítě a v terapii HIV pozitivních žen je díky své bezpečnosti a snášenlivosti doporučován jako jeden z léků volby [107]. Často je užíván ve fixních kombinacích s abakavirem, zidovudinem nebo efavirenzem, dále také s dolutegravirem a kombinuje se i s ritonavirem nebo lopinavirem [4, 116, 119, 123].

Lamivudin byl nedávno popsán jako substrát OCT1, OCT2, MATE1 a MATE2-K, a tyto transportéry tedy pravděpodobně hrají roli v jeho eliminaci [111, 112, 124]. Jelikož se v terapii HIV pozitivních pacientů kombinuje s efavirenzem, v článku IV této práce jsme studovali možné ovlivnění jeho farmakokinetiky a převážně exkrece při současném podání efavirenu. Dále bylo publikováno, že lamivudin je pravděpodobně slabým substrátem P-gp a BCRP [125, 126]. Proto jsme v článku V této práce studovali vliv efluxních transportérů P-gp, BCRP, MRP2 a MATE1 na přestup lamivudinu přes placentu.

3.4.1.3 Efavirenz

Efavirenz (Obr. 7) se řadí do skupiny NNRTI a vykazuje dobrou inhibiční aktivitu proti nerezistentnímu typu HIV-1 [127]. V porovnání s předchozími léčivy působí poněkud odlišným mechanismem. Inhibuje HIV-1 reverzní transkriptázu vazbou na hydrofobní dutinku blízko aktivního centra enzymu a tím vyvolává jeho alosterické změny. Tyto změny narušují orientaci aminokyselinového postranního řetězce v katalytickém místě enzymu, což způsobuje neschopnost reverzní transkriptázy přeměnit virovou RNA na DNA. Oproti léčivům ze skupiny

NRTI, efavirenz tedy pro svou antivirovou aktivitu nepotřebuje být uvnitř buněk fosforylován [128, 129].



Obrázek 7 Struktura efavirenu

Maximálních koncentrací v plazmě (C_{max}), pohybujících se v rozmezí 0.51 až 2.9 $\mu\text{g/ml}$, dosahuje efavirenz za 3 – 5 hodin po jednorázovém podání dávek 100 – 1600 mg. Při vyšších dávkách není jeho absorpce lineární a je redukována [130, 131]. Plazmatické koncentrace dosáhnou ustáleného stavu po 6 – 10 dnech podávání dávky 600 mg jednou denně, kdy se C_{max} pohybuje okolo 4,1 $\mu\text{g/ml}$ a AUC kolem 58,1 $\mu\text{g.h/ml}$ [130]. Společné podání s jídlem zvyšuje jeho biodostupnost o 17 – 22 %, což může vést k intoleranci [129, 131]. Je silně vázán na plazmatické bílkoviny, především albumin (~99,5 – 99,75 %) [132]. Přibližně 14 – 34 % podané dávky je exkretováno močí ve formě metabolitů, v nezměněné formě je 16 – 61 % exkretováno ve stolici a méně než 1 % v moči [130]. Jeho eliminační poločas ($t_{1/2}$) je 52–76 hodin po podání jedné dávky a 40–55 hodin po opakovaném podávání (indukuje svůj metabolismus) [129].

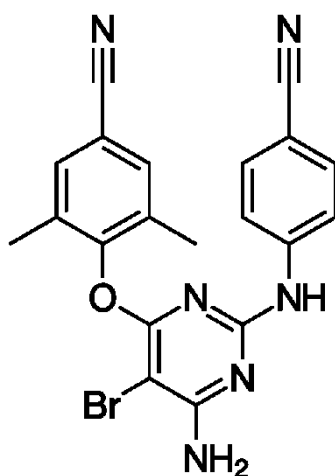
Od roku 1999, kdy byl efavirenz registrován v EU, představuje důležitou součást cART [131]. Efavirenz je doporučován, společně se dvěma různými NRTI nebo s jedním NRTI a ritonavirem „boostovaným“ PI, jako lék volby při zahajovací terapii HIV pozitivních pacientů [4, 129, 131]. K dispozici jsou fixní kombinace s TDF a emtricitabinem, dále se používá v kombinaci s lamivudinem, abakavirem a kombinuje se také s ritonavirem „boostovanými“ inhibitory proteázy [4].

Efavirenz byl popsán jako inhibitor P-gp, BCRP, MRP1, MRP2, MRP3, OCT1 a OCT2 [108-110, 133]. Ovšem v jiných studiích efavirenz nevykazoval inhibiční aktivitu proti P-gp, OCT1 ani OCT2 [112, 134]. Informace o jeho interakcích s MATE1 nebo MATE2-K nejsou

v současné literatuře k dispozici. V článku IV této práce jsme se proto rozhodli vyjasnit a ověřit inhibiční potenciál efavirenzu k P-gp, BCRP, MRP2, OCT1, OCT2, MATE1 a MATE2-K. Dále jsme studovali možný vliv interakce efavirenzu s těmito transportéry na farmakokinetiku jiného antiretrovirotika, se kterým je efavirenz v terapii kombinován, a to lamivudinu. V článku VI této práce jsme dále také řešili, zda je efavirenz substrátem P-gp, BCRP nebo MRP2.

3.4.1.4 Etravirin

Etravirin (Obr. 8), novější antiretrovirotikum ze skupiny NNRTI, je vysoce účinný proti nerezistentnímu typu HIV-1 [135]. Jeho výhodou je účinnost i proti některým NNRTI rezistentním kmenům HIV a navíc vykazuje nižší potenciál pro vznik těchto rezistentních kmenů viru [136]. Etravirin se váže na alosterické místo blízko aktivního centra virové reverzní transkriptázy, blokuje její RNA i DNA polymerázovou aktivitu a zabraňuje tak syntéze virové DNA [137, 138]. Na základě své chemické struktury etravirin vykazuje určitý stupeň konformační a polohové přizpůsobivosti v místě vazby na reverzní transkriptázu. Právě díky tomu je aktivní i proti širšímu spektru mutantních forem tohoto enzymu, které jsou přítomné v rezistentních HIV kmenech [139].



Obrázek 8 Struktura etravirinu

Maximální koncentrace etravirinu po perorálním podání 200 mg dávky se v plasmě objeví přibližně za 4 hodiny. Plazmatické koncentrace dosáhnou ustáleného stavu průměrně po 8 dnech podávání dávky 200 mg dvakrát denně, kdy se C_{max} pohybuje okolo 959 ng/ml a AUC kolem 8,195 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ [140]. Při podání nalačno dosahuje biologické dostupnosti přibližně o 50 % nižší než v kombinaci s jídlem [141]. Je silně vázán (99,9 %) na plazmatické bílkoviny, především na albumin a α 1-kyselý glykoprotein [138, 142]. Primárně je etravirin exkretován stolicí v nezměněné formě (93,7 %), má poměrně dlouhý eliminační poločas ($t_{1/2} = 41 \pm 20$

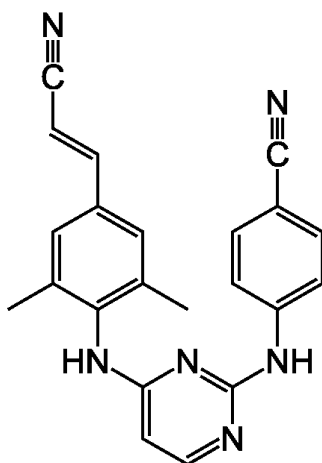
hodin). Pouze 1,2 % podané dávky je exkretováno močí, a proto není potřeba upravovat dávky u pacientů s poruchou funkce ledvin [142].

Etravirin není v současnosti doporučován pro zahajovací terapii HIV pozitivních pacientů, neboť se jedná o novější antiretrovirotikum a dosud nejsou dostatečné údaje o jeho používání [4]. Ovšem díky své účinnosti proti rezistentním HIV kmenům se s výhodou používá jako součást tzv. režimů druhé volby, nasazovaných při nedostatečné účinnosti nebo selhání léčebných režimů první volby [4].

Kvůli omezeným údajům o bezpečnosti etravirinu v těhotenství není v současnosti doporučován k terapii HIV pozitivních těhotných žen a k prevenci přenosu viru z matky na dítě [107]. Ovšem dostupná data naznačují, že je emtricitabin bezpečný a neteratogenní při podávání těhotným ženám [143-145]. Lze tedy předpokládat, že bude v budoucnu k léčbě těhotných žen používán. Dostupné údaje o jeho interakcích s lékovými transportéry jsou v současnosti omezené, byl popsán jako *in vitro* inhibitor BCRP, ale neinhiboval P-gp, dále nebyl transportován P-gp, BCRP ani MRP 1 – 3 [146]. Před zařazením etravirinu do cART u těhotných žen by měl být hodnocen také jeho potenciál způsobovat lékové interakce na placentárních transportérech. Proto jsme v článku II této práce hodnotili možné transportéry způsobené lékové interakce mezi etravirinem a TDF i abakavirem, což jsou popsány substráty P-gp a BCRP [147, 148] a posuzovali jsme vliv těchto interakcí na přechod TDF a abakaviru přes placentu.

3.4.1.5 Rilpivirin

Rilpivirin (Obr. 9) je nejnovější antiretrovirotikum ze skupiny NNRTI schválené k terapii HIV. Je extrémně účinný proti nerezistentnímu typu HIV-1 a také proti celé řadě NNRTI rezistentních kmenů HIV [149, 150]. Podobně jako etravirin, rilpivirin nekompetitivně inhibuje virovou reverzní transkriptázu vazbou na hydrofobní místo blízko aktivního centra enzymu a tím zabraňuje transkripci virové RNA [151, 152]. Díky jeho konformační flexibilitě v místě vazby na reverzní transkriptázu se může snadno navázat i na enzym, který je v tomto místě zmutovaný, tudíž je rilpivirin efektivní i proti jinak rezistentním kmenům HIV [151, 153].



Obrázek 9 Struktura rilpivirinu

Rilpivirin dosahuje maximálních koncentrací v plazmě přibližně za 3 – 4 hodiny po perorálním podání [152]. Při podávání dávky 25 mg jednou denně dosahuje maximální koncentrace v plazmě průměrně hodnoty 149 ng/ml (\pm 32,3) a AUC se pohybuje obvykle kolem 5 210 (\pm 2 001) ng.h/ml [153]. Jeho biodostupnost je přibližně o 40 % snižena při podání nalačno a o 50 % snižena při podání s nutričními nápoji bohatými na bílkoviny. Měl by se proto podávat s jídlem, které ovšem neobsahuje příliš mnoho bílkovin [152, 154]. Rilpivirin je více než z 99 % vázán na plazmatické bílkoviny, především na albumin [151, 154]. Je silně metabolizován jaterními enzymy cytochromu P450 (především CYP 3A4), jen 0,03 % podané dávky je exkretováno močí v nezměněné podobě [154]. Jeho eliminační poločas je poměrně dlouhý (přibližně 34 – 55 hodin) [152].

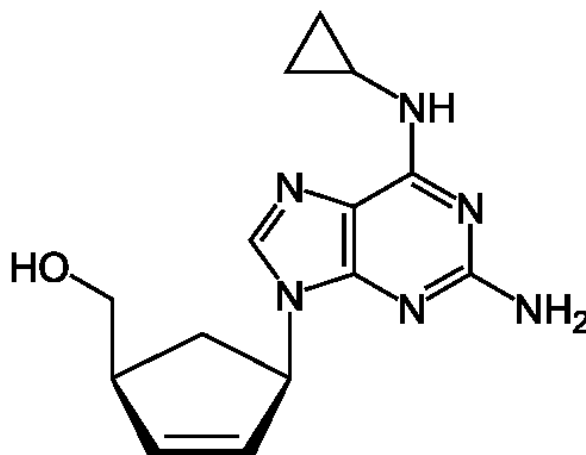
Jelikož je rilpivirin nové antiretrovirotikum a dosud nejsou dostatečné údaje o jeho používání, není v současnosti doporučován jako lék volby pro zahajovací terapii HIV pozitivních pacientů [4]. Je ovšem součástí alternativních léčebných režimů, které mohou být preferovány pro určité skupiny pacientů a pro tyto účely existuje navíc i ve fixní kombinaci s TDF a emtricitabinem [4].

Rilpivirin pravděpodobně není substrátem P-gp, BCRP ani MRP2, ovšem byl popsán jako inhibitor P-gp a BCRP a nejspíš inhibuje také OCT1 a OCT2 [155, 156]. Jelikož je mnoho antiretrovirotik běžně užívaných v cART substrátem hlavních ABC nebo SLC transportérů, mohou jiná antiretrovirotika schopná interakce s těmito transportéry ovlivnit jejich farmakokinetiku a způsobit i klinicky relevantní lékové interakce [2]. V článku III této práce jsme proto studovali potenciál rilpivirinu způsobit lékové interakce inhibicí P-gp, BCRP, MRP2, OCT1, OCT2 nebo MATE1. Když jsme pozorovali významnou inhibici pouze P-gp a

BCRP, vybrali jsme abakavir, který je popsáným substrátem P-gp a BCRP ale není substrátem MRP2, OCT1 ani OCT2 [112, 148, 157], jako vhodné antiretrovirotikum pro testování interakcí s rilpivirinem na P-gp a BCRP transportérech.

3.4.1.6 Abakavir

Abakavir (Obr. 10) je opět antiretrovirotikum ze skupiny NRTI. Jde o syntetický, karbocyklický analog guanosinu používaný od konce 90. let k terapii HIV infekce [158, 159]. Abakavir je v buňkách fosforylován na svou aktivní trifosforylovanou formu karbovir 5'-trifosfát (CBV-TP) odlišnými enzymy než ostatní NRTI [160]. Karbovir 5'-trifosfát je poté virovou reverzní transkriptázou inkorporován místo endogenního nukleotidu 2'-deoxyguanosin trifosfátu do vznikajícího řetězce DNA, čímž dojde k ukončení syntézy virové DNA, jelikož se již další nukleotid nemůže navázat [160]. Díky tomu, že abakavir pro svou fosforylaci na aktivní formu využívá jiné enzymy než ostatní NRTI, lze jej s nimi výhodně a efektivně kombinovat.



Obrázek 10 Struktura abakaviru

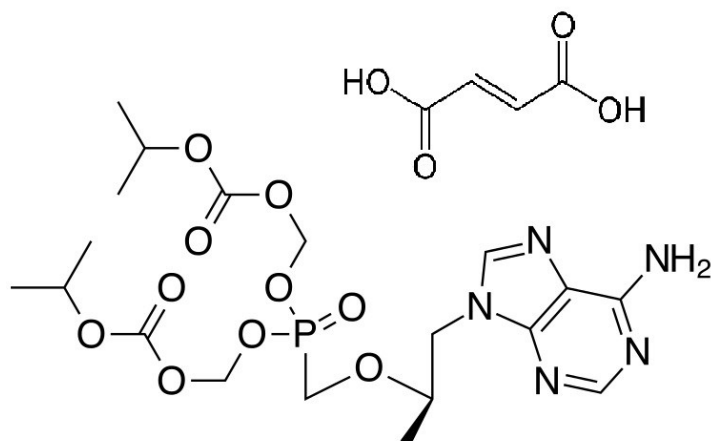
Abakavir je po perorálním podání rychle absorbován a vykazuje lineární farmakokinetiku [161]. Maximálních koncentrací v plazmě, které jsou přibližně 4,10 – 5,46 $\mu\text{g/ml}$, je dosaženo za 0,63 – 1 hodinu po podání 600 mg dávky [161, 162]. Jeho absolutní biodostupnost je okolo 83%, podání s jídlem snižuje jeho C_{max} i T_{max} , ovšem hodnoty AUC nejsou ovlivněny [163]. Abakavir je asi z 50 % vázán na plazmatické bílkoviny [159]. Je extenzivně metabolizován v játrech, mimo jiné i alkohol dehydrogenázou, méně než 2% podané dávky je exkretováno v nezměněné podobě moči [162, 163]. Eliminační poločas abakaviru je poměrně krátký (< 2 hodiny), ovšem klinický účinek je závislý na jeho aktivní formě (CBV-TP), která má eliminační poločas delší než 20 hodin [159, 163].

Abakavir je v současnosti stále široce používané antiretrovirotikum, představuje základ terapie HIV pozitivních pacientů a je součástí léčebných režimů první volby při zahajovací terapii HIV infekce [4]. Je také používán při léčbě HIV pozitivních těhotných žen a v prevenci přenosu viru z matky na dítě [107]. K dispozici jsou v současnosti jeho fixní kombinace s lamivudinem, zidovudinem nebo dolutegravirem, kombinuje se například i s efavirenzem [4, 107].

Abakavir byl nedávno popsán jako duální substrát P-gp a BCRP a byla prokázána i role těchto transportérů v jeho přestupu přes placentu [148]. Jelikož se používá v terapii těhotných žen, zvolili jsme ho v článku II této práce jako jeden z vhodných substrátů pro testování vlivu etravirinu na transport antiretrovirotik přes placentu. Díky tomu, že je abakavir substrátem P-gp a BCRP, ale není substrátem MRP2, OCT1 ani OCT2 [112, 148, 157], a také díky svému širokému uplatnění v léčbě HIV infekce, byl v článku III této práce vybrán jako vhodné antiretrovirotikum pro testování interakcí s rilpivirinem.

3.4.1.7 Tenofovir disoproxil fumarát (TDF)

Tenofovir disoproxil fumarát (Obr. 11), další antiretrovirotikum ze skupiny NRTI, je proléčivo tenofoviru, což je acyklický nukleotid a analog deoxyadenosinu [164, 165]. Tenofovir je aktivní proti HIV-1 i HIV-2 a také proti hepadnaviru (virus způsobující hepatitidu B) [164, 165]. Kvůli velmi špatné absorpci tenofoviru po perorálním podání je pro zvýšení své střevní absorpce podáván ve formě TDF [166, 167]. Po absorpci je TDF hydrolyzován na tenofovir, který je následně v buňkách fosforylován na aktivní metabolit tenofovir difosfát [167]. Tento aktivní metabolit je poté virovou reverzní transkriptázou začleněn do vznikajícího řetězce DNA místo endogenního nukleotidu deoxyadenosin 5'-trifosfátu a tím dojde k přerušení syntézy virové DNA, poněvadž další nukleotid se již nemůže navázat [165].



Obrázek 11 Struktura tenofovir disoproxil fumarátu (TDF)

Biodostupnost TDF nalačno je přibližně 25 %, při podání s tučným jídlem se zvyšuje až na 39 %, maximálních koncentrací v plazmě dosahuje za 2,3 hodiny po podání s jídlem [168]. TDF vykazuje nízkou vazbu na bílkoviny plazmy (0,7 %) i séra (7,2 %) [169]. Hodnoty C_{\max} a AUC tenofoviru se pohybují kolem 240 – 250 ng/ml a 1 588 – 2 093 ng.h/ml po podání jednorázové dávky 300 mg a 303 – 375 ng/ml a 2 460 – 3 020 ng.h/ml po opakovaném podávání této dávky jednou denně [168, 170]. Eliminační poločas tenofoviru je poměrně dlouhý ($t_{1/2}$ = 11,9 hodin a po opakovaném podávání 14,4 hodin), jeho aktivní forma má eliminační poločas ještě delší (až 50 hodin) [168, 169]. Farmakokinetika tenofoviru není ovlivněna jaterním metabolismem, není substrátem enzymů cytochromu P450, je exkretován v nezměněné podobě močí kombinací glomerulární filtrace a aktivní tubulární sekrece, proto je nutná úprava dávek u pacientů s poruchou funkce ledvin [165, 169].

Léčebné režimy obsahující TDF jsou v současnosti široce používané a představují nejvýhodnější antivirovou terapii. Jsou doporučovány jako režimy první volby při zahajovací terapii HIV infekce [4]. TDF je doporučován i jako profylaxe pro snížení rizika pohlavního přenosu viru u rizikových skupin dospělých [171]. U těhotných žen je doporučován jako lék první volby v rámci léčby HIV infekce i prevence přenosu viru z matky na dítě [107, 172]. V současnosti jsou k dispozici jeho fixní kombinace s emtricitabinem, efavirenzem, rilpivirinem, elvitegravirem nebo cobicistatem [4].

Nedávno byl TDF popsán jako duální substrát P-gp a BCRP efluxních transportérů a zároveň byla prokázána role těchto transportérů v jeho přestupu přes placentu [147]. Kvůli svému širokému použití při terapii HIV pozitivních těhotných žen byl v článku II této práce

zvolen jako jeden z vhodných substrátů pro testování vlivu etravirinu na transport antiretrovirotik přes placentu.

4 Cíle práce

Obsahem předkládané dizertační práce je studium farmakokinetických vlastností léčiv používaných v kombinované antiretrovirální terapii. U jednotlivých látek jsme sledovali především možnost jejich vzájemných interakcí na ABC a SLC lékových transportérech a následný vliv na absorpci, distribuci nebo exkreci.

Jedná se konkrétně o splnění následujících cílů:

- 1) Pomocí *in vitro* transportních experimentů na MDCKII buňkách exprimujících lidské transportéry popsat, zda je emtricitabin substrátem či inhibitorem P-gp, BCRP, MRP2, OCT1, OCT2 a/nebo MATE1 lékového transportéru.
- 2) Pomocí metod *in vitro* (akumulační a transportní experimenty s MDCKII buňkami exprimujícími ABC transportéry) a *in situ* (transportní studie přes duálně perfundovanou potkaní placentu) popsat vliv etravirinu na transplacentární přestup TDF a abakaviru.
- 3) Pomocí metod *in vitro* (akumulační a transportní experimenty s MDCKII buňkami exprimujícími ABC transportéry a intestinálními Caco-2 buňkami) a *in vivo* farmakokinetických studií na potkanech popsat vliv rilpivirinu na farmakokinetiku (absorpci) abakaviru.
- 4) Pomocí metod *in vitro* (akumulační a transportní experimenty s MDCKII buňkami exprimujícími ABC i SLC transportéry a HEK 239 buňkami) a *in vivo* farmakokinetických studií na potkanech popsat vliv efavirenzu na farmakokinetiku (exkreci) lamivudinu
- 5) Popsat, zda je lamivudin substrátem vybraných ABC a SLC transportérů a studovat s použitím *ex vivo* a *in situ* metod jejich případnou roli v přestupu lamivudinu přes placentu.
- 6) Pomocí *in vitro* transportních experimentů na MDCKII buňkách exprimujících lidské ABC transportéry a *in situ* metody duálně perfundované potkaní placenty zjistit, zda je efavirenz substrátem P-gp, BCRP nebo MRP2.

5 Seznam prací a podíl kandidáta na jednotlivých publikacích

Tato dizertační práce je předkládána jako komentovaný soubor šesti prací publikovaných v zahraničních časopisech s IF. Všechny manuskripty jsou původní experimentální práce zaměřené na popis a vyhodnocení interakcí klinicky relevantních antiretrovirotik s lékovými transportéry a vliv těchto interakcí na farmakokinetiku studovaných léčiv.

Kandidát je prvním autorem čtyř prací (I, II, III a IV) a spoluautorem dvou prací (V a VI). Jeho podíl na jednotlivých publikacích je následující:

- I. Reznicek, J., Ceckova, M., Cerveny, L., Müller, F., & Staud, F. (2017). Emtricitabine is a substrate of MATE1 but not of OCT1, OCT2, P-gp, BCRP or MRP2 transporters. *Xenobiotica*, 47(1), 77-85.
 - praktické provedení převážné většiny buněčných experimentů, analýza dat a sepsání manuskriptu
- II. Reznicek, J., Ceckova, M., Tupova, L., & Staud, F. (2016). Etravirine inhibits ABCG2 drug transporter and affects transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate. *Placenta*, 47, 124-129.
 - praktické provedení převážné většiny buněčných experimentů a perfúzních experimentů v přítomnosti inhibitorů, analýza dat a sepsání manuskriptu
- III. Reznicek, J., Ceckova, M., Ptackova, Z., Martinec, O., Tupova, L., Cerveny, L., & Staud, F. (2017). MDR1 and BCRP Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction between Rilpivirine and Abacavir and Effect on Intestinal Absorption. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(9), e00837-17.
 - praktické provedení převážné většiny in vitro experimentů, podíl na provedení in vivo experimentů, analýza dat a sepsání manuskriptu
- IV. Ceckova, M.,* Reznicek, J.,* Deutsch, B., Fromm, M.F., Staud, F. (June 2018). Efavirenz decreases renal excretion of lamivudine through inhibition of OCT1, OCT2 and MATE1 transporters. *PLOS One*, “under review”.

* Oba autoři přispěli k této práci stejným dílem

- praktické provedení převážné většiny *in vitro* experimentů, podíl na provedení *in vivo* experimentů, analýza dat a podíl na sepsání manuskriptu

V. Ceckova, M., Reznicek, J., Ptackova, Z., Cerveny, L., Müller, F., Kacerovsky, M., Fromm, M. F., Glazier, J. D., & Staud, F. (2016). Role of ABC and Solute Carrier Transporters in the Placental Transport of Lamivudine. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(9), 5563-5572.

- praktické provedení buněčných experimentů s MDCK buňkami exprimujícími relevantní SLC transportéry, podíl na analýze dat a na sepsání manuskriptu

VI. Zelena, L., Reznicek, J., Ceckova, M., & Sklenarova, H. (2017). Universal efavirenz determination in transport study, rat placenta perfusion and placenta lysate by HPLC-UV. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 137, 70-77.

- praktické provedení buněčných experimentů s MDCK buňkami exprimujícími relevantní ABC transportéry, praktické provedení perfúzních experimentů, podíl na analýze dat a revize manuskriptu

6 Seznam použité literatury

1. Pau, A.K. and J.M. George, *Antiretroviral therapy: current drugs*. Infect Dis Clin North Am, 2014. 28(3): p. 371-402.
2. Kis, O., et al., *The complexities of antiretroviral drug-drug interactions: role of ABC and SLC transporters*. Trends Pharmacol Sci, 2010. 31(1): p. 22-35.
3. Piacenti, F.J., *An update and review of antiretroviral therapy*. Pharmacotherapy, 2006. 26(8): p. 1111-33.
4. AIDSinfo, *Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. Dostupné z <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/AdultandAdolescentGL.pdf>. (16. 06. 2016)*.
5. Brown, K.C., S. Paul, and A.D. Kashuba, *Drug interactions with new and investigational antiretrovirals*. Clin Pharmacokinet, 2009. 48(4): p. 211-41.
6. Walubo, A., *The role of cytochrome P450 in antiretroviral drug interactions*. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2007. 3(4): p. 583-98.
7. Han, H.K., *Role of transporters in drug interactions*. Arch Pharm Res, 2011. 34(11): p. 1865-77.
8. Muller, F. and M.F. Fromm, *Transporter-mediated drug-drug interactions*. Pharmacogenomics, 2011. 12(7): p. 1017-37.
9. Chan, L.M., S. Lowes, and B.H. Hirst, *The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability*. Eur J Pharm Sci, 2004. 21(1): p. 25-51.
10. Lee, W. and R.B. Kim, *Transporters and renal drug elimination*. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 2004. 44: p. 137-166.
11. Lee, G., et al., *Drug transporters in the central nervous system: brain barriers and brain parenchyma considerations*. Pharmacol Rev, 2001. 53(4): p. 569-96.
12. Bart, J., et al., *The distribution of drug-efflux pumps, P-gp, BCRP, MRP1 and MRP2, in the normal blood-testis barrier and in primary testicular tumours*. Eur J Cancer, 2004. 40(14): p. 2064-70.
13. Staud, F., L. Cerveny, and M. Ceckova, *Pharmacotherapy in pregnancy; effect of ABC and SLC transporters on drug transport across the placenta and fetal drug exposure*. Journal of Drug Targeting, 2012. 20(9): p. 736-763.
14. Giacomini, K.M., et al., *Membrane transporters in drug development*. Nat Rev Drug Discov, 2010. 9(3): p. 215-36.
15. Zamek-Gliszczynski, M.J., et al., *Highlights from the International Transporter Consortium Second Workshop*. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 2012. 92(5): p. 553-556.
16. Zhang, L., et al., *Predicting drug-drug interactions: an FDA perspective*. AAPS J, 2009. 11(2): p. 300-6.
17. FDA, *Guidance for industry, drug interaction studies — study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations. Clinical Pharmacology. Silver Spring (MD): FDA. 2012*.
18. Sai, Y., *Biochemical and molecular pharmacological aspects of transporters as determinants of drug disposition*. Drug Metab Pharmacokinet, 2005. 20(2): p. 91-9.
19. Hillgren, K.M., et al., *Emerging transporters of clinical importance: an update from the International Transporter Consortium*. Clin Pharmacol Ther, 2013. 94(1): p. 52-63.

20. Glavinas, H., et al., *The role of ABC transporters in drug resistance, metabolism and toxicity*. *Curr Drug Deliv*, 2004. 1(1): p. 27-42.
21. Borst, P. and R.O. Elferink, *Mammalian ABC transporters in health and disease*. *Annu Rev Biochem*, 2002. 71: p. 537-92.
22. Schinkel, A.H. and J.W. Jonker, *Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview*. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003. 55(1): p. 3-29.
23. Hediger, M.A., et al., *The ABCs of solute carriers: physiological, pathological and therapeutic implications of human membrane transport proteins - Introduction*. *Pflugers Archiv-European Journal of Physiology*, 2004. 447(5): p. 465-468.
24. Higgins, C.F., *ABC transporters: physiology, structure and mechanism--an overview*. *Res Microbiol*, 2001. 152(3-4): p. 205-10.
25. Szakacs, G., et al., *The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox)*. *Drug Discov Today*, 2008. 13(9-10): p. 379-93.
26. Dean, M., Y. Hamon, and G. Chimini, *The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily*. *J Lipid Res*, 2001. 42(7): p. 1007-17.
27. Juliano, R.L. and V. Ling, *A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants*. *Biochim Biophys Acta*, 1976. 455(1): p. 152-62.
28. Li, Y., et al., *The structure and functions of P-glycoprotein*. *Curr Med Chem*, 2010. 17(8): p. 786-800.
29. Choudhuri, S. and C.D. Klaassen, *Structure, function, expression, genomic organization, and single nucleotide polymorphisms of human ABCB1 (MDR1), ABCC (MRP), and ABCG2 (BCRP) efflux transporters*. *Int J Toxicol*, 2006. 25(4): p. 231-59.
30. vanHelvoort, A., et al., *MDR1 P-glycoprotein is a lipid translocase of broad specificity, while MDR3 P-glycoprotein specifically translocates phosphatidylcholine*. *Cell*, 1996. 87(3): p. 507-517.
31. Thiebaut, F., et al., *Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1987. 84(21): p. 7735-8.
32. Lee, J.S., et al., *Reduced drug accumulation and multidrug resistance in human breast cancer cells without associated P-glycoprotein or MRP overexpression*. *J Cell Biochem*, 1997. 65(4): p. 513-26.
33. Litman, T., et al., *The multidrug-resistant phenotype associated with overexpression of the new ABC half-transporter, MXR (ABCG2)*. *J Cell Sci*, 2000. 113 (Pt 11): p. 2011-21.
34. Doyle, L. and D.D. Ross, *Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2)*. *Oncogene*, 2003. 22(47): p. 7340-58.
35. Nigam, S.K., *What do drug transporters really do?* *Nat Rev Drug Discov*, 2015. 14(1): p. 29-44.
36. Krishnamurthy, P., T. Xie, and J.D. Schuetz, *The role of transporters in cellular heme and porphyrin homeostasis*. *Pharmacol Ther*, 2007. 114(3): p. 345-58.
37. Ceckova, M., et al., *Expression and functional activity of breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2) transporter in the human choriocarcinoma cell line BeWo*. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2006. 33(1-2): p. 58-65.
38. Deeley, R.G., C. Westlake, and S.P. Cole, *Transmembrane transport of endo- and xenobiotics by mammalian ATP-binding cassette multidrug resistance proteins*. *Physiol Rev*, 2006. 86(3): p. 849-99.
39. Keppler, D., *Multidrug resistance proteins (MRPs, ABCCs): importance for pathophysiology and drug therapy*. *Handb Exp Pharmacol*, 2011(201): p. 299-323.

40. Borst, P., et al., *A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins*. J Natl Cancer Inst, 2000. 92(16): p. 1295-302.
41. Kruh, G.D. and M.G. Belinsky, *The MRP family of drug efflux pumps*. Oncogene, 2003. 22(47): p. 7537-52.
42. Klaassen, C.D. and L.M. Aleksunes, *Xenobiotic, bile acid, and cholesterol transporters: function and regulation*. Pharmacol Rev, 2010. 62(1): p. 1-96.
43. Koepsell, H., K. Lips, and C. Volk, *Polyspecific organic cation transporters: structure, function, physiological roles, and biopharmaceutical implications*. Pharm Res, 2007. 24(7): p. 1227-51.
44. Koepsell, H. and H. Endou, *The SLC22 drug transporter family*. Pflugers Arch, 2004. 447(5): p. 666-76.
45. Hagenbuch, B. and C. Gui, *Xenobiotic transporters of the human organic anion transporting polypeptides (OATP) family*. Xenobiotica, 2008. 38(7-8): p. 778-801.
46. Riedmaier, A.E., et al., *Organic Anion Transporters and Their Implications in Pharmacotherapy*. Pharmacological Reviews, 2012. 64(3): p. 421-449.
47. Molina-Arcas, M., et al., *Physiological and pharmacological roles of nucleoside transporter proteins*. Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids, 2008. 27(6-7): p. 769-778.
48. Ciarimboli, G., *Organic cation transporters*. Xenobiotica, 2008. 38(7-8): p. 936-71.
49. Otsuka, M., et al., *A human transporter protein that mediates the final excretion step for toxic organic cations*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. 102(50): p. 17923-8.
50. Staud, F., et al., *Multidrug and toxin extrusion proteins (MATE/SLC47); role in pharmacokinetics*. Int J Biochem Cell Biol, 2013. 45(9): p. 2007-11.
51. Yonezawa, A. and K. Inui, *Importance of the multidrug and toxin extrusion MATE/SLC47A family to pharmacokinetics, pharmacodynamics/toxicodynamics and pharmacogenomics*. Br J Pharmacol, 2011. 164(7): p. 1817-25.
52. Zhang, X., et al., *Twelve transmembrane helices form the functional core of mammalian MATE1 (multidrug and toxin extruder 1) protein*. J Biol Chem, 2012. 287(33): p. 27971-82.
53. Ahmadimoghaddam, D., et al., *Synchronized activity of organic cation transporter 3 (Oct3/Slc22a3) and multidrug and toxin extrusion 1 (Mate1/Slc47a1) transporter in transplacental passage of MPP+ in rat*. Toxicol Sci, 2012. 128(2): p. 471-81.
54. Ahmadimoghaddam, D., et al., *Organic cation transporter 3 (OCT3/SLC22A3) and multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) transporter in the placenta and fetal tissues: expression profile and fetus protective role at different stages of gestation*. Biol Reprod, 2013. 88(3): p. 55.
55. Shugarts, S. and L.Z. Benet, *The role of transporters in the pharmacokinetics of orally administered drugs*. Pharm Res, 2009. 26(9): p. 2039-54.
56. Nakamura, T., M. Yamamori, and T. Sakaeda, *Pharmacogenetics of intestinal absorption*. Curr Drug Deliv, 2008. 5(3): p. 153-69.
57. Benet, L.Z., C.L. Cummins, and C.Y. Wu, *Unmasking the dynamic interplay between efflux transporters and metabolic enzymes*. Int J Pharm, 2004. 277(1-2): p. 3-9.
58. Couture, L., J.A. Nash, and J. Turgeon, *The ATP-binding cassette transporters and their implication in drug disposition: A special look at the heart*. Pharmacological Reviews, 2006. 58(2): p. 244-258.
59. Obligacion, R., M. Murray, and I. Ramzan, *Drug-metabolizing enzymes and transporters: Expression in the human prostate and roles in prostate drug disposition*. Journal of Andrology, 2006. 27(2): p. 138-150.

60. Miller, D.S., B. Bauer, and A.M. Hartz, *Modulation of P-glycoprotein at the blood-brain barrier: opportunities to improve central nervous system pharmacotherapy*. *Pharmacol Rev*, 2008. 60(2): p. 196-209.
61. Staud, F. and M. Ceckova, *Regulation of drug transporter expression and function in the placenta*. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2015. 11(4): p. 533-55.
62. Moss, D.M., M. Neary, and A. Owen, *The role of drug transporters in the kidney: lessons from tenofovir*. *Front Pharmacol*, 2014. 5: p. 248.
63. Shitara, Y., T. Horie, and Y. Sugiyama, *Transporters as a determinant of drug clearance and tissue distribution*. *Eur J Pharm Sci*, 2006. 27(5): p. 425-46.
64. Yin, J. and J. Wangn, *Renal drug transporters and their significance in drug–drug interactions*. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2016.
65. Launay-Vacher, V., et al., *Renal tubular drug transporters*. *Nephron Physiol*, 2006. 103(3): p. p97-106.
66. Li, R., H.A. Barton, and M.V. Varma, *Prediction of pharmacokinetics and drug-drug interactions when hepatic transporters are involved*. *Clin Pharmacokinet*, 2014. 53(8): p. 659-78.
67. Ayrton, A. and P. Morgan, *Role of transport proteins in drug absorption, distribution and excretion*. *Xenobiotica*, 2001. 31(8-9): p. 469-97.
68. Terada, T. and D. Hira, *Intestinal and hepatic drug transporters: pharmacokinetic, pathophysiological, and pharmacogenetic roles*. *J Gastroenterol*, 2015. 50(5): p. 508-19.
69. Huang, S.M., et al., *New era in drug interaction evaluation: US Food and Drug Administration update on CYP enzymes, transporters, and the guidance process*. *J Clin Pharmacol*, 2008. 48(6): p. 662-70.
70. Glaeser, H., *Importance of P-glycoprotein for drug-drug interactions*. *Handb Exp Pharmacol*, 2011(201): p. 285-97.
71. Konig, J., F. Muller, and M.F. Fromm, *Transporters and drug-drug interactions: important determinants of drug disposition and effects*. *Pharmacol Rev*, 2013. 65(3): p. 944-66.
72. Burk, O., et al., *The impact of thyroid disease on the regulation, expression, and function of ABCB1 (MDR1/P glycoprotein) and consequences for the disposition of digoxin*. *Clin Pharmacol Ther*, 2010. 88(5): p. 685-94.
73. Birkenfeld, A.L., et al., *Genetic influences on the pharmacokinetics of orally and intravenously administered digoxin as exhibited by monozygotic twins*. *Clin Pharmacol Ther*, 2009. 86(6): p. 605-8.
74. Fenner, K.S., et al., *Drug-drug interactions mediated through P-glycoprotein: clinical relevance and in vitro-in vivo correlation using digoxin as a probe drug*. *Clin Pharmacol Ther*, 2009. 85(2): p. 173-81.
75. Greiner, B., et al., *The role of intestinal P-glycoprotein in the interaction of digoxin and rifampin*. *J Clin Invest*, 1999. 104(2): p. 147-53.
76. Leahey, E.B., Jr., et al., *Interaction between quinidine and digoxin*. *JAMA*, 1978. 240(6): p. 533-4.
77. Fromm, M.F., et al., *Inhibition of P-glycoprotein-mediated drug transport: A unifying mechanism to explain the interaction between digoxin and quinidine [see comments]*. *Circulation*, 1999. 99(4): p. 552-7.
78. Eyal, S., P. Hsiao, and J.D. Unadkat, *Drug interactions at the blood-brain barrier: fact or fantasy?* *Pharmacol Ther*, 2009. 123(1): p. 80-104.
79. Akamine, Y., et al., *Psychotropic drug-drug interactions involving P-glycoprotein*. *CNS Drugs*, 2012. 26(11): p. 959-73.

80. Hedman, A., et al., *Digoxin-verapamil interaction: reduction of biliary but not renal digoxin clearance in humans*. Clin Pharmacol Ther, 1991. 49(3): p. 256-62.
81. Angelin, B., et al., *Quinidine reduces biliary clearance of digoxin in man*. Eur J Clin Invest, 1987. 17(3): p. 262-5.
82. Suzuyama, N., et al., *Species differences of inhibitory effects on P-glycoprotein-mediated drug transport*. J Pharm Sci, 2007. 96(6): p. 1609-18.
83. Somogyi, A., et al., *Reduction of metformin renal tubular secretion by cimetidine in man*. Br J Clin Pharmacol, 1987. 23(5): p. 545-51.
84. van Crugten, J., et al., *Selectivity of the cimetidine-induced alterations in the renal handling of organic substrates in humans. Studies with anionic, cationic and zwitterionic drugs*. J Pharmacol Exp Ther, 1986. 236(2): p. 481-7.
85. Feng, B., et al., *Effect of human renal cationic transporter inhibition on the pharmacokinetics of varenicline, a new therapy for smoking cessation: an in vitro-in vivo study*. Clin Pharmacol Ther, 2008. 83(4): p. 567-76.
86. Tsuda, M., et al., *Targeted disruption of the multidrug and toxin extrusion 1 (mate1) gene in mice reduces renal secretion of metformin*. Mol Pharmacol, 2009. 75(6): p. 1280-6.
87. Konig, J., et al., *Double-transfected MDCK cells expressing human OCT1/MATE1 or OCT2/MATE1: determinants of uptake and transcellular translocation of organic cations*. Br J Pharmacol, 2011. 163(3): p. 546-55.
88. Sato, T., et al., *Transcellular transport of organic cations in double-transfected MDCK cells expressing human organic cation transporters hOCT1/hMATE1 and hOCT2/hMATE1*. Biochem Pharmacol, 2008. 76(7): p. 894-903.
89. Tsuda, M., et al., *Involvement of human multidrug and toxin extrusion 1 in the drug interaction between cimetidine and metformin in renal epithelial cells*. J Pharmacol Exp Ther, 2009. 329(1): p. 185-91.
90. Umehara, K.I., et al., *Effect of cationic drugs on the transporting activity of human and rat OCT/Oct 1-3 in vitro and implications for drug-drug interactions*. Xenobiotica, 2008. 38(9): p. 1203-18.
91. Yonezawa, A. and K. Inui, *Organic cation transporter OCT/SLC22A and H(+)/organic cation antiporter MATE/SLC47A are key molecules for nephrotoxicity of platinum agents*. Biochem Pharmacol, 2011. 81(5): p. 563-8.
92. Ciarimboli, G., et al., *Cisplatin nephrotoxicity is critically mediated via the human organic cation transporter 2*. Am J Pathol, 2005. 167(6): p. 1477-84.
93. Katsuda, H., et al., *Protecting cisplatin-induced nephrotoxicity with cimetidine does not affect antitumor activity*. Biol Pharm Bull, 2010. 33(11): p. 1867-71.
94. Gheorghade, M., K.F. Adams, Jr., and W.S. Colucci, *Digoxin in the management of cardiovascular disorders*. Circulation, 2004. 109(24): p. 2959-64.
95. Pedersen, K.E., J. Hastrup, and S. Hvidt, *The effect of quinidine on digoxin kinetics in cardiac patients*. Acta Med Scand, 1980. 207(4): p. 291-5.
96. Ding, R., et al., *Substantial pharmacokinetic interaction between digoxin and ritonavir in healthy volunteers*. Clin Pharmacol Ther, 2004. 76(1): p. 73-84.
97. Jalava, K.M., J. Partanen, and P.J. Neuvonen, *Itraconazole decreases renal clearance of digoxin*. Ther Drug Monit, 1997. 19(6): p. 609-13.
98. Alam, C., et al., *Role and modulation of drug transporters in HIV-1 therapy*. Adv Drug Deliv Rev, 2016. 103: p. 121-43.
99. Freed, E.O., *HIV-1 replication*. Somat Cell Mol Genet, 2001. 26(1-6): p. 13-33.
100. Pace, M.J., et al., *HIV reservoirs and latency models*. Virology, 2011. 411(2): p. 344-54.

101. Dahl, V., L. Josefsson, and S. Palmer, *HIV reservoirs, latency, and reactivation: prospects for eradication*. *Antiviral Res*, 2010. 85(1): p. 286-94.
102. Davey, R.T., Jr., et al., *HIV-1 and T cell dynamics after interruption of highly active antiretroviral therapy (HAART) in patients with a history of sustained viral suppression*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. 96(26): p. 15109-14.
103. Saag, M.S., *Emtricitabine, a new antiretroviral agent with activity against HIV and hepatitis B virus*. *Clin Infect Dis*, 2006. 42(1): p. 126-31.
104. Wilson, J.E., et al., *Human immunodeficiency virus type-1 reverse transcriptase. Contribution of Met-184 to binding of nucleoside 5'-triphosphate*. *J Biol Chem*, 1996. 271(23): p. 13656-62.
105. Wilson, J.E., et al., *The 5'-triphosphates of the (-) and (+) enantiomers of cis-5-fluoro-1-[2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolane-5-yl]cytosine equally inhibit human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1993. 37(8): p. 1720-2.
106. Frick, L.W., et al., *Pharmacokinetics, oral bioavailability, and metabolism in mice and cynomolgus monkeys of (2'R,5'S)-cis-5-fluoro-1-[2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl] cytosine, an agent active against human immunodeficiency virus and human hepatitis B virus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994. 38(12): p. 2722-9.
107. AIDSinfo, *Panel on Treatment of HIV-Infected Pregnant Women and Prevention of Perinatal Transmission. Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Pregnant HIV-1- Infected Women for Maternal Health and Interventions to Reduce Perinatal HIV Transmission in the United States*. Dostupné z <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/PerinatalGL.pdf>. (11. 09. 2016).
108. Storch, C.H., et al., *Comparison of the inhibitory activity of anti-HIV drugs on P-glycoprotein*. *Biochem Pharmacol*, 2007. 73(10): p. 1573-81.
109. Weiss, J., et al., *Inhibition of MRP1/ABCC1, MRP2/ABCC2, and MRP3/ABCC3 by nucleoside, nucleotide, and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors*. *Drug Metab Dispos*, 2007. 35(3): p. 340-4.
110. Weiss, J., et al., *Modulation of human BCRP (ABCG2) activity by anti-HIV drugs*. *J Antimicrob Chemother*, 2007. 59(2): p. 238-45.
111. Minuesa, G., et al., *Transport of lamivudine [(-)-beta-L-2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine] and high-affinity interaction of nucleoside reverse transcriptase inhibitors with human organic cation transporters 1, 2, and 3*. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009. 329(1): p. 252-61.
112. Jung, N., et al., *Relevance of the organic cation transporters 1 and 2 for antiretroviral drug therapy in human immunodeficiency virus infection*. *Drug Metab Dispos*, 2008. 36(8): p. 1616-23.
113. Bousquet, L., et al., *Emtricitabine: Inhibitor and substrate of multidrug resistance associated protein*. *Eur J Pharm Sci*, 2008. 35(4): p. 247-56.
114. Nakatani-Freshwater, T. and D.R. Taft, *Renal excretion of emtricitabine I: effects of organic anion, organic cation, and nucleoside transport inhibitors on emtricitabine excretion*. *J Pharm Sci*, 2008. 97(12): p. 5401-10.
115. Nakatani-Freshwater, T. and D.R. Taft, *Renal excretion of emtricitabine II. effect of trimethoprim on emtricitabine excretion: In vitro and in vivo studies*. *J Pharm Sci*, 2008. 97(12): p. 5411-20.
116. Achenbach, C.J., K.K. Scarsi, and R.L. Murphy, *Abacavir/lamivudine fixed-dose combination antiretroviral therapy for the treatment of HIV*. *Adv Ther*, 2010. 27(1): p. 1-16.
117. Johnson, M.A., et al., *Clinical pharmacokinetics of lamivudine*. *Clin Pharmacokinet*, 1999. 36(1): p. 41-66.

118. Yuen, G.J., et al., *Pharmacokinetics, absolute bioavailability, and absorption characteristics of lamivudine*. J Clin Pharmacol, 1995. 35(12): p. 1174-80.
119. Moodley, J., et al., *Pharmacokinetics and antiretroviral activity of lamivudine alone or when coadministered with zidovudine in human immunodeficiency virus type 1-infected pregnant women and their offspring*. J Infect Dis, 1998. 178(5): p. 1327-33.
120. Heald, A.E., et al., *Pharmacokinetics of lamivudine in human immunodeficiency virus-infected patients with renal dysfunction*. Antimicrob Agents Chemother, 1996. 40(6): p. 1514-9.
121. Moore, K.H., et al., *Pharmacokinetics of lamivudine administered alone and with trimethoprim-sulfamethoxazole*. Clin Pharmacol Ther, 1996. 59(5): p. 550-8.
122. Moore, K.H., et al., *The pharmacokinetics of lamivudine phosphorylation in peripheral blood mononuclear cells from patients infected with HIV-1*. AIDS, 1999. 13(16): p. 2239-50.
123. Eron, J.J., et al., *Treatment with lamivudine, zidovudine, or both in HIV-positive patients with 200 to 500 CD4+ cells per cubic millimeter*. North American HIV Working Party. N Engl J Med, 1995. 333(25): p. 1662-9.
124. Muller, F., et al., *Role of organic cation transporter OCT2 and multidrug and toxin extrusion proteins MATE1 and MATE2-K for transport and drug interactions of the antiviral lamivudine*. Biochem Pharmacol, 2013. 86(6): p. 808-15.
125. de Souza, J., et al., *Comparison of bidirectional lamivudine and zidovudine transport using MDCK, MDCK-MDR1, and Caco-2 cell monolayers*. J Pharm Sci, 2009. 98(11): p. 4413-9.
126. Wang, X., et al., *Breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) induces cellular resistance to HIV-1 nucleoside reverse transcriptase inhibitors*. Mol Pharmacol, 2003. 63(1): p. 65-72.
127. Young, S.D., et al., *L-743, 726 (DMP-266): a novel, highly potent nonnucleoside inhibitor of the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase*. Antimicrob Agents Chemother, 1995. 39(12): p. 2602-5.
128. Esnouf, R.M., et al., *Unique features in the structure of the complex between HIV-1 reverse transcriptase and the bis(heteroaryl)piperazine (BHAP) U-90152 explain resistance mutations for this nonnucleoside inhibitor*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. 94(8): p. 3984-9.
129. Fortin, C. and V. Joly, *Efavirenz for HIV-1 infection in adults: an overview*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2004. 2(5): p. 671-84.
130. Adkins, J.C. and S. Noble, *Efavirenz*. Drugs, 1998. 56(6): p. 1055-64; discussion 1065-6.
131. Maggiolo, F., *Efavirenz: a decade of clinical experience in the treatment of HIV*. J Antimicrob Chemother, 2009. 64(5): p. 910-28.
132. Almond, L.M., et al., *Intracellular and plasma pharmacokinetics of efavirenz in HIV-infected individuals*. J Antimicrob Chemother, 2005. 56(4): p. 738-44.
133. Moss, D.M., et al., *Interactions of antiretroviral drugs with the SLC22A1 (OCT1) drug transporter*. Front Pharmacol, 2015. 6: p. 78.
134. Stormer, E., et al., *Differential modulation of P-glycoprotein expression and activity by non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors in cell culture*. Pharm Res, 2002. 19(7): p. 1038-45.
135. Seminari, E., A. Castagna, and A. Lazzarin, *Etravirine for the treatment of HIV infection*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2008. 6(4): p. 427-33.
136. Vingerhoets, J., et al., *TMC125 displays a high genetic barrier to the development of resistance: evidence from in vitro selection experiments*. J Virol, 2005. 79(20): p. 12773-82.

137. Figueiredo, A., et al., *Potent nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors target HIV-1 Gag-Pol*. PLoS Pathog, 2006. 2(11): p. e119.
138. Croxtall, J.D., *Etravirine: a review of its use in the management of treatment-experienced patients with HIV-1 infection*. Drugs, 2012. 72(6): p. 847-69.
139. Das, K., et al., *Roles of conformational and positional adaptability in structure-based design of TMC125-R165335 (etravirine) and related non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors that are highly potent and effective against wild-type and drug-resistant HIV-1 variants*. J Med Chem, 2004. 47(10): p. 2550-60.
140. Scholler-Gyure, M., et al., *Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of etravirine*. Clin Pharmacokinet, 2009. 48(9): p. 561-74.
141. Scholler-Gyure, M., et al., *Effects of different meal compositions and fasted state on the oral bioavailability of etravirine*. Pharmacotherapy, 2008. 28(10): p. 1215-22.
142. Elsayed, R.K. and D.J. Caldwell, *Etravirine: A novel nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor for managing human immunodeficiency virus infection*. Am J Health Syst Pharm, 2010. 67(3): p. 193-205.
143. Izurieta, P., et al., *Safety and pharmacokinetics of etravirine in pregnant HIV-1-infected women*. HIV Med, 2011. 12(4): p. 257-8.
144. Furco, A., et al., *Successful use of darunavir, etravirine, enfuvirtide and tenofovir/emtricitabine in pregnant woman with multiclass HIV resistance*. AIDS, 2009. 23(3): p. 434-5.
145. Calcagno, A., et al., *Transplacental passage of etravirine and maraviroc in a multidrug-experienced HIV-infected woman failing on darunavir-based HAART in late pregnancy*. J Antimicrob Chemother, 2013. 68(8): p. 1938-9.
146. Zembruski, N.C., W.E. Haefeli, and J. Weiss, *Interaction potential of etravirine with drug transporters assessed in vitro*. Antimicrob Agents Chemother, 2011. 55(3): p. 1282-4.
147. Neumanova, Z., et al., *Interactions of tenofovir and tenofovir disoproxil fumarate with drug efflux transporters ABCB1, ABCG2, and ABCC2; role in transport across the placenta*. AIDS, 2014. 28(1): p. 9-17.
148. Neumanova, Z., et al., *Effect of drug efflux transporters on placental transport of antiretroviral agent abacavir*. Reprod Toxicol, 2015. 57: p. 176-82.
149. Azijn, H., et al., *TMC278, a next-generation nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI), active against wild-type and NNRTI-resistant HIV-1*. Antimicrob Agents Chemother, 2010. 54(2): p. 718-27.
150. Goebel, F., et al., *Short-term antiviral activity of TMC278--a novel NNRTI--in treatment-naive HIV-1-infected subjects*. AIDS, 2006. 20(13): p. 1721-6.
151. Janssen, P.A., et al., *In search of a novel anti-HIV drug: multidisciplinary coordination in the discovery of 4-[[4-[[4-[(1E)-2-cyanoethenyl]-2,6-dimethylphenyl]amino]-2-pyrimidinyl]amino]benzotrile (R278474, rilpivirine)*. J Med Chem, 2005. 48(6): p. 1901-9.
152. Ford, N., et al., *Safety, efficacy, and pharmacokinetics of rilpivirine: systematic review with an emphasis on resource-limited settings*. HIV AIDS (Auckl), 2011. 3: p. 35-44.
153. Garvey, L. and A. Winston, *Rilpivirine: a novel non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor*. Expert Opin Investig Drugs, 2009. 18(7): p. 1035-41.
154. Sharma, M. and L.D. Saravolatz, *Rilpivirine: a new non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor*. J Antimicrob Chemother, 2013. 68(2): p. 250-6.
155. Weiss, J. and W.E. Haefeli, *Potential of the novel antiretroviral drug rilpivirine to modulate the expression and function of drug transporters and drug-metabolising enzymes in vitro*. Int J Antimicrob Agents, 2013. 41(5): p. 484-7.

156. Moss, D.M., et al., *Rilpivirine inhibits drug transporters ABCB1, SLC22A1, and SLC22A2 in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013. 57(11): p. 5612-8.
157. Giri, N., et al., *Investigation of the role of breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) on pharmacokinetics and central nervous system penetration of abacavir and zidovudine in the mouse*. *Drug Metab Dispos*, 2008. 36(8): p. 1476-84.
158. Hervey, P.S. and C.M. Perry, *Abacavir: a review of its clinical potential in patients with HIV infection*. *Drugs*, 2000. 60(2): p. 447-79.
159. Yuen, G.J., S. Weller, and G.E. Pakes, *A review of the pharmacokinetics of abacavir*. *Clin Pharmacokinet*, 2008. 47(6): p. 351-71.
160. Faletto, M.B., et al., *Unique intracellular activation of the potent anti-human immunodeficiency virus agent 1592U89*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997. 41(5): p. 1099-107.
161. Kumar, P.N., et al., *Safety and pharmacokinetics of abacavir (1592U89) following oral administration of escalating single doses in human immunodeficiency virus type 1-infected adults*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999. 43(3): p. 603-8.
162. McDowell, J.A., et al., *Pharmacokinetics of [(14)C]abacavir, a human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcriptase inhibitor, administered in a single oral dose to HIV-1-infected adults: a mass balance study*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999. 43(12): p. 2855-61.
163. Chittick, G.E., et al., *Abacavir: absolute bioavailability, bioequivalence of three oral formulations, and effect of food*. *Pharmacotherapy*, 1999. 19(8): p. 932-42.
164. Lou, L., *Advances in Nucleotide Antiviral Development from Scientific Discovery to Clinical Applications: Tenofovir Disoproxil Fumarate for Hepatitis B*. *J Clin Transl Hepatol*, 2013. 1(1): p. 33-8.
165. Munoz de Benito, R.M. and J.R. Arribas Lopez, *Tenofovir disoproxil fumarate-emtricitabine coformulation for once-daily dual NRTI backbone*. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2006. 4(4): p. 523-35.
166. Shaw, J.P., et al., *Metabolism and pharmacokinetics of novel oral prodrugs of 9-[(R)-2-(phosphonomethoxy)propyl]adenine (PMPA) in dogs*. *Pharm Res*, 1997. 14(12): p. 1824-9.
167. Robbins, B.L., et al., *Anti-human immunodeficiency virus activity and cellular metabolism of a potential prodrug of the acyclic nucleoside phosphonate 9-R-(2-phosphonomethoxypropyl)adenine (PMPA), Bis(isopropylloxymethylcarbonyl)PMPA*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998. 42(3): p. 612-7.
168. Barditch-Crovo, P., et al., *Phase i/ii trial of the pharmacokinetics, safety, and antiretroviral activity of tenofovir disoproxil fumarate in human immunodeficiency virus-infected adults*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001. 45(10): p. 2733-9.
169. Gallant, J.E. and S. Deresinski, *Tenofovir disoproxil fumarate*. *Clin Infect Dis*, 2003. 37(7): p. 944-50.
170. Hu, C.Y., et al., *Pharmacokinetics and tolerability of Tenofovir disoproxil fumarate 300 mg once daily: an open-label, single- and multiple-dose study in healthy Chinese subjects*. *Clin Ther*, 2013. 35(12): p. 1884-9.
171. Grant, R.M., et al., *Preexposure chemoprophylaxis for HIV prevention in men who have sex with men*. *N Engl J Med*, 2010. 363(27): p. 2587-99.
172. WHO *Antiretroviral drugs for treating pregnant women and preventing HIV infection in infants. Recommendations for a public health approach (2010 version)*. WHO. Available at: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241599818_eng.pdf. [Accessed on 10 May 2016].

7 Jednotlivé práce a jejich komentáře

Plné znění článků je v příloze.

7.1 Emtricitabine is a substrate of MATE1 but not of OCT1, OCT2, P-gp, BCRP or MRP2 transporters

Josef Řezníček, Martina Čečková, Lukáš Červený, Fabian Müller, František Štaud

Xenobiotica, 2017; 47(1): p. 77-85

(IF_[2016/2017] – 1,932)

Emtricitabin je nukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy používaný v kombinované antiretrovirální terapii HIV pozitivních pacientů. Je vylučován převážně ledvinami v nezměněné podobě. Cílem této práce bylo objasnit, zda je emtricitabin substrátem ABC (P-gp, BCRP, MRP2) nebo SLC (OCT1, OCT2, MATE1) transportérů a posoudit vliv těchto transportérů ve farmakokinetických lékových interakcích.

S využitím *in vitro* transportních experimentů přes monovrstvu MDCKII buněk transdukovaných lidskými transportéry jsme zjistili, že emtricitabin není substrátem P-gp, BCRP, MRP2, OCT1 ani OCT2, ale je substrátem MATE1. Transport emtricitabinu přes MDCK-MATE1 buněčnou monovrstvu byl stimulován pH gradientem a inhibován při nízké teplotě. MATE1-zprostředkovaný transport emtricitabinu jsme dále potvrdili pomocí jeho inhibice v přítomnosti cimetidinu nebo ritonaviru a nárůstu akumulace emtricitabinu v buňkách.

Ze získaných výsledků vyplývá, že emtricitabin je substrátem MATE1, ale není substrátem OCT1, OCT2, P-gp, BCRP ani MRP2 transportních proteinů. Dále usuzujeme, že MATE1 může ovlivňovat farmakokinetiku emtricitabinu, především na úrovni ledvinné exkrece. MATE1 má také potenciál způsobovat lékové interakce mezi emtricitabinem a dalšími léčivy, která jsou inhibitory, případně substráty, tohoto transportéru.

7.2 Etravirine inhibits ABCG2 drug transporter and affects transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate

Josef Řezníček, Martina Čečková, Lenka Ťupová, František Štaud

Placenta, 2016; 47: p. 124-129

(IF_[2015] – 2,972)

Všechny HIV pozitivní těhotné ženy by měly být léčeny kombinovanou antiretrovirální terapií kvůli prevenci přenosu viru z matky na dítě. Nedávné práce naší výzkumné skupiny prokázaly, že přestup dvou antiretrovirotik ze skupiny NRTI, abakaviru a TDF z matky do plodu je limitován aktivitou placentárních P-gp a BCRP transportérů. Cílem této studie tedy bylo zhodnotit lékové interakce způsobené transportéry mezi těmito léčivými a etravirinem, novým NNRTI používaným v cART, a posoudit relevanci těchto lékových interakcí pro transplacentární transport abakaviru a TDF.

Použili jsme *in vitro* akumulární a transportní experimenty na MDCK buňkách exprimujících P-gp a BCRP transportéry. Dále jsme studovali efekt etravirinu na přestup abakaviru a TDF přes placentu pomocí *in situ* metody duálně perfundované potkaní placenty.

Pomocí akumulárních experimentů jsme potvrdili významnou inhibici BCRP, nikoli však P-gp, etravirinem. Etravirin dále kompletně inhiboval transport TDF přes monovrstvu MDCK buněk exprimujících BCRP. Podobný inhibiční efekt etravirinu jsme pozorovali také u transportu abakaviru, ovšem již při nižší koncentraci etravirinu. Etravirin také snižoval transport TDF, ale ne abakaviru, přes potkaní placentu ve směru z plodu do mateřské cirkulace.

Etravirin je tedy schopen ovlivnit transplacentární farmakokinetiku TDF, nikoli však abakaviru, a to díky inhibici BCRP transportéru. Naše výsledky by mohly hrát úlohu při začlenění etravirinu do léčebných režimů obsahujících TDF a používaných během těhotenství.

7.3 MDR1 and BCRP transporter-mediated drug-drug interaction between rilpivirine and abacavir; effect on intestinal absorption

Josef Řezníček, Martina Čečková, Zuzana Ptáčková, Ondřej Martinec, Lenka Ťupová, Lukáš Červený, František Štaud

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2017: 61(9), e00837-17

(IF_[2016/2017] – 4,302)

Rilpivirin je vysoce účinný ne-nukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy druhé generace, který představuje efektivní složku kombinované antiretrovirální terapie (cART) HIV pozitivních pacientů. Mnoho antiretrovirotik běžně užívaných v cART je substrátem ABC nebo SLC lékových transportérů, což je činí náchylné ke vzniku farmakokinetických lékových interakcí. Cílem této studie bylo zhodnotit interakce rilpivirinu s abakavirem a lamivudinem na vybraných ABC a SLC transportérech pomocí *in vitro* metod a posoudit jejich vliv na farmakokinetiku pomocí *in vivo* studií.

Za použití akumulačních studií na MDCK buňkách exprimujících vybrané ABC a SLC transportéry jsme zjistili, že rilpivirin je silný inhibitor MDR1 a BCRP transportérů ale neinhibuje MRP2, OCT1, OCT2 ani MATE1. Transportní experimenty přes monovrstvy polarizovaných MDCK-MDR1, MDCK-BCRP a Caco-2 buněk prokázaly, že rilpivirin inhibuje eflux abakaviru zprostředkovaný MDR1 a BCRP transportéry a zvyšuje jeho přestup přes membrány. *In vivo* experimenty na samcích potkanů kmene Wistar potvrdily inhibici MDR1 a BCRP transportérů v tenkém střevě, což vedlo k významnému zvýšení biodostupnosti abakaviru. V této práci jsme tedy potvrdili inhibici MDR1 a BCRP transportérů rilpivirinem, což může ovlivnit farmakokinetické chování současně podávaných substrátů těchto transportérů, jako je například abakavir.

7.4 Efavirenz reduces renal excretion of lamivudine by inhibiting organic cation transporters (OCT, Oct) and multidrug and toxin extrusion proteins (MATE, Mate).

Martina Čečková[#], Josef Řezníček[#], Deutsch Birgit, Fromm Martin F., František Štaud

[#] *oba autoři přispěli k této práci stejným dílem*

PLOS One, “v recenzním řízení” (červen 2018).

(IF_[2016/2017] – 2.806)

Efavirenz, ne-nukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy, představuje významnou složku kombinované antiretrovirální terapie (cART) HIV pozitivních pacientů. Je obvykle kombinován s nukleosidovými inhibitory reverzní transkriptázy, z nichž mnohé jsou substráty OCT, MATE, MDR1, BCRP nebo MRP2 lékových transportérů. Cílem této studie bylo zhodnotit inhibiční potenciál efavirenu k těmto transportérům a pomocí *in vitro* and *in vivo* studií posoudit případné, transportéry zprostředkované, lékové interakce mezi efavirenzem a příslušnými antiretrovirovými, která jsou substráty zmíněných transportérů.

Akumulační experimenty prokázaly, že efavirenz inhibuje vstup metforminu do MDCK buněk exprimujících OCT1, OCT2 a MATE1 s příslušnými hodnotami IC₅₀ 2,30, 5,66 a 3,85 μM. MATE2-K transportér v HEK buňkách byl inhibován pouze nepatrně. Efavirenz dále významně snižoval transport MPP⁺ a lamivudinu, nedávno popsáného substrátu OCT a MATE transportérů, přes monovrstvy buněk MDCK-OCT1, MDCK-OCT2, MDCK-MATE1, MDCK-OCT1-MATE1 a MDCK-OCT2-MATE1. K potvrzení interakce mezi efavirenzem a lamivudinem jsme provedli *in vivo* farmakokinetické studie na potkanech kmene Wistar. Intravenózně aplikovaný efavirenz (10 μM) a kontrolní inhibitor OCT/MATE transportérů cimetidin (300 μM) významně snižovali renální clearance lamivudinu (o 74,9% a 64,8%) a dále vedli ke zvýšené akumulaci lamivudinu v ledvinné tkáni (10,3x a 9,84x vyšší akumulace). Efavirenz dále snižoval eflux kalceinu z MDCK-MRP2 buněk s hodnotou IC₅₀ = 4,9 μM. Poměrně slabý inhibiční účinek byl pozorován u akumulace Hoechst 33342 v MDCK-MDR1 a MDCK-BCRP buňkách s příslušnými hodnotami IC₅₀ 33,3 a 31,5 μM. Naše data naznačují, že efavirenz je silný inhibitor OCT1, OCT2, MATE1 a MRP2 transportérů, který je schopný způsobit lékové interakce vedoucí ke snížené eliminaci současně podaných substrátů těchto transportérů a jejich zvýšeném zachytu v exkrečních orgánech, což může vést k toxicitě a snížení bezpečnosti terapie.

7.5 Role of ABC and solute carrier transporters in the placental transport of lamivudine

Martina Čečková, Josef Řezníček, Zuzana Ptáčková, Lukáš Červený, Fabian Müller, Marian Kacerovský, Martin Fromm, Jocelyne Glazier, František Štaud

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2016: p. 5563-72

(IF_[2015] – 4,476)

Lamivudin je jedno z antiretrovirotik první volby užívané k prevenci přenosu HIV viru z matky na plod a při terapii HIV pozitivních těhotných žen. V této práci jsme studovali význam efluxních transportérů P-gp, BCRP, MRP2 a MATE1 pro transmembránový transport lamivudinu a jeho přechod přes placentu.

Použili jsme *in vitro* akumulční a transportní experimenty na MDCK buňkách exprimujících studované transportéry, *in situ* metodu duálně perfundované potkaní placenty a dále metodu vychytávání léčiva do mikrovilózních membránových (MVM) vezikulů izolovaných krátce po porodu z lidské placenty.

Transport lamivudinu byl významně urychlen v buňkách exprimujících MATE1, nikoli však v buňkách exprimujících P-gp, BCRP nebo MRP2. Podobně také transplacentární transport lamivudinu nebyl ovlivněn těmito třemi transportéry. Nicméně přestup lamivudinu přes potkaní placentu a jeho vstup do MVM vezikulů byl závislý na pH, což naznačuje možné zapojení MATE1 v transportu lamivudinu přes placentu ve směru z plodu do mateřské cirkulace.

Transport lamivudinu přes placentu tedy není ovlivněný P-gp, BCRP ani MRP2. Naše výsledky však naznačují přítomnost na pH závislého mechanismu, který zprostředkovává transport lamivudinu přes placentu ve směru z plodu do mateřské cirkulace. Na základě našich výsledků se domníváme, že MATE1 může být, alespoň z části, zodpovědný za tento transport.

7.6 Universal efavirenz determination in transport study, rat placenta perfusion and placenta lysate by HPLC-UV

Lucie Zelená, Josef Řezníček, Martina Čečková, Hana Sklenářová

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2017: p. 70 - 77

(IF_[2016] – 3,255)

Cílem této práce bylo vyvinout jednoduchou, rychlou a citlivou metodu pro stanovení efavirenzu ve vzorcích získaných z *in vitro* transportních a *in situ* perfúzních experimentů a s pomocí této metody objasnit, zda je efavirenz substrátem P-gp, BCRP nebo MRP2. Metoda byla vyvinuta a validována a bylo změřeno celkem 805 vzorků.

Z výsledků *in vitro* transportních experimentů provedených na MDCK buňkách exprimujících lidský P-gp, BCRP nebo MRP2 vyplývá, že efavirenz pravděpodobně není substrátem ani jednoho z těchto transportérů. Toto jsme chtěli ještě potvrdit pomocí *in situ* perfúzních experimentů na potkaní placentě. První získané výsledky ovšem naznačovaly, že je efavirenz silně transportován z fetální do maternální cirkulace. Tento transport jsme však nebyli schopni inhibovat několika kontrolními inhibitory studovaných transportérů. Nakonec jsme zjistili, že při perfúzních experimentech docházelo k silné adhezi efavirenzu k hadičkám (Masterflex Tygon E-Lab na bázi PVC), kterými byl roztok přiváděn k placentě, a získané výsledky byly tedy značně zkreslené.

Podařilo se nám prokázat, že efavirenz pravděpodobně není substrátem P-gp, BCRP ani MRP2 *in vitro*, avšak kvůli technickým potížím při perfúzních experimentech jsme toto nebyli schopni ověřit *in situ* na potkaní placentě.

8 Závěr

V léčbě HIV infekce je v současnosti standardně využívána kombinovaná antiretrovirální terapie (cART), která efektivně snižuje hladiny virové RNA v krvi, oddaluje propuknutí AIDS a tím prodlužuje a zkvalitňuje život HIV pozitivních pacientů. S výhodou se užívá i u HIV pozitivních těhotných žen, kde minimalizuje riziko přenosu viru z matky na dítě. V neposlední řadě se také využívá jako prevence před nákazou HIV u rizikových osob (např. zdravotnický personál přicházející do styku s HIV pozitivními pacienty nebo partneři HIV pozitivních osob). Jelikož se však při tomto způsobu léčby užívá více léčiv současně, existuje zde riziko vzniku lékových interakcí, které mohou způsobit selhání terapie nebo vést k rozvoji nežádoucích účinků léčby [4, 107].

Lékové transportní proteiny široce ovlivňují absorpci, distribuci a eliminaci velkého počtu léčiv, včetně antiretrovirotik, a mohou se tedy podílet na vzniku farmakokinetických lékových interakcí mezi jednotlivými léčivy. Znalost interakcí jednotlivých antiretrovirotik s lékovými transportéry je tedy nezbytná ke komplexnímu pochopení jejich farmakokinetiky a k zajištění bezpečné a účinné terapie HIV pozitivních pacientů včetně těhotných žen a k prevenci přenosu viru z matky na dítě nebo z infikované osoby na osobu zdravou. V této práci jsme se tedy zaměřili na objasnění interakcí několika antiretrovirotik s vybranými lékovými transportéry a také na to, zda tyto interakce mohou ovlivňovat farmakokinetiku jiných antiretrovirotik používaných v cART.

V řešení projektů, jež jsou součástí této disertační práce, jsme využili řadu již dříve zavedených experimentálních metodik. Použití MDCK linií exprimujících OCT a MATE1 transportéry a Caco-2 buněk v akumulčních a transportních studiích bylo v naší laboratoři v rámci této práce nově zavedeno a optimalizováno.

Transportní experimenty přes monovrstvu polarizovaných MDCK buněk exprimujících jednotlivé transportéry umožňují hodnotit, zda testované léčivo je či není substrátem lékových transportérů. Podle ITC lze léčivo označit za substrát daného transportéru tehdy, když poměr transportu z bazolaterálního do apikálního kompartmentu (BA) versus opačnému transportu (AB) je větší než 2 ($BA/AB > 2$). V rámci této práce jsme odhalili emtricitabin jako substrát MATE1 transportéru a potvrdili též vysokoafinitní transport lamivudinu prostřednictvím MATE1.

Kromě studia substrátové specifity byly transportní experimenty použity i pro hodnocení interakcí léčiva s transportem modelových substrátů a případně jiných léčiv, která jsou pomocí

daného transportního proteinu přenášena. Tyto studie navazovaly na *in vitro* akumulární experimenty na transportéry exprimujících MDCK buněčných liniích, kde jsme hodnotili, zda dané antiretrovirální léčivo ovlivňuje akumulaci modelových fluorescenčních substrátů (např. Hoechst 33342 nebo ASP⁺) uvnitř buněk. V rámci těchto experimentů jsme tak odhalili etravirin jak inhibitor BCRP interagující s transportem abakaviru a TDF a rilpivirin jako inhibitor P-gp i BCRP schopný ovlivnit transport abakaviru *in vitro*. Obě interakce byly ověřeny též na orgánové, resp. celotělové úrovni s využitím *in situ* metody duálně perfundované potkaní placenty a *in vivo* farmakokinetických experimentů na samecích potkanů kmene Wistar. Farmakokinetická interakční studie na potkanech byla použita i v hodnocení interakce efavirenzu s lamivudinem na úrovni renální exkrece zprostředkované OCT a především MATE1 transportéry.

V rámci této dizertační práce jsme výrazně rozšířili současný stav poznání ohledně interakcí vybraných, ve farmakoterapii HIV často používaných antiretrovirotik s lékovými transportéry. Kromě toho jsme odhalili několik potenciálně klinicky významných lékových interakcí a to jak na úrovni absorpce, eliminace tak i distribuce, včetně ovlivnění přestupu antiretrovirotik přes placentu. Výsledky jednotlivých publikací jsou přehledně zpracovány a sumarizovány v tabulkách 2 a 3. Klinický význam uvedených interakcí a jejich případnou roli v ovlivnění účinnosti a bezpečnosti terapie však bude nutné ještě ověřit v rámci studií na pacientech. Nicméně v případě jejich potvrzení by mohly námi publikované informace vést k efektivnější a bezpečnější terapii HIV pozitivních pacientů a to včetně terapie HIV pozitivních žen.

Tabulka 2 Souhrn interakcí antiretrovirotik s vybranými lékovými transportéry.

	MDR1	BCRP	MRP2	OCT1	OCT2	MATE1	MATE2-K
emtricitabin	Sub. -	Sub. -	Sub. -	Sub. -	Sub. -	Sub. +	ND
etravirin	Inh. -	Inh. +	ND	ND	ND	ND	ND
rilpivirin	Inh. +	Inh. +	Inh. -	Inh. -	Inh. -	Inh. -	ND
lamivudin	Sub. -	Sub. -	Sub. -	ND	ND	Sub. +	ND
efavirenz	Sub. – Inh. (+)	Sub. – Inh. (+)	Sub. – Inh. (+)	Inh. +	Inh. +	Inh. +	Inh. -

Sub. Substrát

Inh. Inhibitor

+ Pozitivní interakce

(+) Slabá pozitivní interakce

- Žádná interakce

ND - Netestováno

Tabulka 3 Souhrn zjištěných lékových interakcí.

Léková interakce	Transportér(y)	Metoda	Výsledek interakce
emtricitabin X cimetidin, ritonavir	MATE1	<i>in vitro</i>	↓ transport emtricitabinu přes buněčnou monovrstvu
etravirin X TDF	BCRP	<i>in situ</i>	↑ transport TDF přes placentu (z maternální krve do fetální)
rilpivirin X abakavir	MDR1, BDRP	<i>in vivo</i>	↑ biodostupnost abakaviru
efavirenz X lamivudin	OCT2, MATE1	<i>in vivo</i>	ovlivnění farmakokinetiky lamivudinu - ↓ renální clearance, ↑ retence v ledvinné tkáni, ↑ AUC _{0-∞} , ↑ t _{1/2}

9 Seznam doposud publikovaných prací kandidáta

9.1 Recenzované publikace v odborných časopisech s IF týkající se tématu práce

Reznicek, J., Ceckova, M., Cerveny, L., Muller, F., Staud, F., ***Emtricitabine is a substrate of MATE1 but not of OCT1, OCT2, P-gp, BCRP or MRP2 transporters.*** Xenobiotica, 2017. 47(1): p. 77-85.

(IF_[2016/2017] – 1,932)

Reznicek, J., Ceckova, M., Tupova, L., Staud, F., ***Etravirine inhibits ABCG2 drug transporter and affects transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate.*** Placenta, 2016. 47: p. 124-129.

(IF_[2015] – 2,972)

Reznicek, J., Ceckova, M., Ptackova, Z., Martinec, O., Tupova, L., Cerveny, L., Staud, F., ***MDR1 and BCRP transporter-mediated drug-drug interaction between rilpivirine and abacavir; effect on intestinal absorption.*** Antimicrob Agents Chemother, 2017: 61(9), e00837-17

(IF_[2016/2017] – 4,302)

Ceckova, M., Reznicek, J., Deutsch, B., Fromm, M. F., Staud, F., ***Efavirenz reduces renal excretion of lamivudine by inhibiting organic cation transporters (OCT, Oct) and multidrug and toxin extrusion proteins (MATE, Mate).*** PLOS One, “under review” (June 2018).

(IF_[2016/2017] – 2.806)

Ceckova, M., Reznicek, J., Ptackova, Z., Cerveny, L., Muller, F., Kacerovsky, M., Fromm, M. F., Glazier, J. D., Staud, F., ***Role of ABC and Solute Carrier Transporters in the Placental Transport of Lamivudine.*** Antimicrob Agents Chemother, 2016. 60(9): p. 5563-72.

(IF_[2015] – 4,476)

Zelena, L., Reznicek, J., Ceckova, M., Sklenarova, H., ***Universal efavirenz determination in transport study, rat placenta perfusion and placenta lysate by HPLC-UV.*** J Pharm Biomed Anal, 2017. 137: p. 70-77.

(IF_[2016] – 3,255)

9.2 Přednášky na konferencích

Reznicek J., Ceckova M., Staud F. **Study of drug interaction with MATE1 transporter using ASP+ accumulation method.**

4. Postgraduální a 2. Postdoktorandská vědecká konference Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy, 28. – 29. ledna 2014, Hradec Králové, Česká republika

Reznicek J., Ceckova M., Neumanova Z., Cerveny L., Staud F. **Emtricitabine is a substrate of MATE1, but does not interact with P-glycoprotein, BCRP, MRP2, OCT1 or OCT2 transporters.**

5. Postgraduální a 3. Postdoktorandská vědecká konference Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy, 3. – 4. února 2015, Hradec Králové, Česká republika

Reznicek J., Ceckova M., Staud F. **Efavirenz decreases renal excretion of lamivudine through inhibition of OCT1, OCT2 and MATE1 drug transporters.**

6. Postgraduální a 4. Postdoktorandská vědecká konference Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy, 9. – 10. února 2016, Hradec Králové, Česká republika

Reznicek J., Ceckova M., Ptackova Z., Martinec O., Cerveny L., Staud F. **Rilpivirine inhibits MDR1 and BCRP transporters and increases oral absorption of abacavir.**

7. Postgraduální a 5. Postdoktorandská vědecká konference Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy, 7. – 8. února 2017, Hradec Králové, Česká republika

Reznicek J., Ceckova M., Staud F. **Interactions of antiretrovirals with drug transporters; role in the pharmacokinetics.**

8. Postgraduální a 6. Postdoktorandská vědecká konference Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy, 24. – 25. ledna 2018, Hradec Králové, Česká republika

9.3 Postery prezentované na konferencích

Reznicek J., Ceckova M., Lima M., Staud F. **Efflux of lamivudine in MATE1 expressing MDCK cells.**

63. Farmakologické dny, 11. – 13. září 2013, Olomouc, Česká republika

Reznicek J., Ceckova M., Cerveny L., Staud F. ***In vitro* studies on interactions of Emtricitabine with MATE1, ABCB1, ABCG2 and ABCC2 efflux transporters.**

Solvo Meet the experts, Transporter conference 2014, 1. – 4. dubna 2014, Budapešť, Maďarsko

Ceckova M., Neumanova Z., **Reznicek J.**, Cerveny L., Staud F. **Translucental pharmacokinetics of lamivudine is not affected by ABC drug efflux transporters.**

5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress, 13. – 16. dubna 2014, Melbourne, Austrálie

Reznicek J., Ceckova M., Cerveny L., Staud F. **Emtricitabine is not transported by ABCB1, ABCG2, ABCC2 or MATE1 efflux transporters.**

64. Farmakologické dny, 25. – 27. června 2014, Martin, Slovenská republika

Reznicek J., Ceckova M., Neumanova Z., Cerveny L., Staud F. **Interaction of emtricitabine with MATE1, OCT1, OCT2, P-glycoprotein, BCRP and MRP2 transporters.**

13th European ISSX Meeting, 22. – 25. června 2015, Glasgow, Velká Británie

Reznicek J., Ceckova M., Staud F. **Efavirenz decreases renal excretion of lamivudine through inhibition of OCT1, OCT2 and MATE1 drug transporters.**

65. Farmakologické dny, 16. – 18. září 2015, Praha, Česká republika

Reznicek J., Ceckova M., Staud F. **Efavirenz decreases renal excretion of lamivudine through inhibition of OCT1, OCT2 and MATE1 drug transporters.**

Solvo Meet the experts, Transporter conference 2016, 11. – 13. května 2016, Budapešť, Maďarsko

Reznicek J., Ceckova M., Staud F. **Etravirine influences transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate through inhibition of BCRP drug transporter.**

66. Farmakologické dny, 13. – 15. září 2016, Brno, Česká republika

10 Ocenění

Za posterovou prezentaci s názvem „**Efavirenz decreases renal excretion of lamivudine through inhibition of OCT1, OCT2 and MATE1 drug transporters**” bylo uděleno čestné uznání v rámci soutěže o nejlepší posterová sdělení.

autoři: **Reznicek J.**, Ceckova M., Staud F.

65. Farmakologické dny, 16. – 18. září 2015, Praha, Česká republika